

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI

**ÉVALUATION DE LA BIODIVERSITÉ MARINE SUR  
SUBSTRAT ROCHEUX À L'AIDE DU CODEBARRE  
GÉNÉTIQUE ET INFLUENCE DE DEUX TYPES DE  
SUBSTRATS SUR LE RECRUTEMENT DES ESPÈCES  
ENDÉMIQUES ET DE L'ESPÈCE ALLOCHTONE *CIONA*  
*INTESTINALIS***

Mémoire présenté

dans le cadre du programme de maîtrise en Océanographie  
en vue de l'obtention du grade de maître ès Océanographie

PAR

© GENEVIÈVE CÔTÉ

Août 2015



**Composition du jury :**

**Gesche Winkler, présidente du jury, Université du Québec à Rimouski/Institut des Sciences de la MER**

**France Dufresne, directeur de recherche, Université du Québec à Rimouski**

**Rémy Rochette, codirecteur de recherche, Université du Nouveau-Brunswick à Saint-Jean (UNBSJ)**

**Suzanne Dufour, examinateur externe, Memorial University à Terre-Neuve**

Dépôt initial le 09 septembre 2014

Dépôt final le 31 août 2015





UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI  
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.



## ***REMERCIEMENTS***

Merci au Conseil National de Recherche du Canada (CRSNG) sans qui ce projet n'aurait pu être réalisé. Un merci tout spécial à France, avec qui j'ai pu développer une belle complicité et qui m'a permis de vivre de belles expériences au plan professionnel. Merci France de m'avoir donné cette liberté, ça m'a permis de développer mon autonomie. Un grand merci à Rémy, merci de m'avoir écouté et rassuré quand mon petit hamster s'emballait dans ma tête! Sans toi, ce projet n'aurait pas été possible. Marie-Josée Maltais, avec qui j'ai eu beaucoup de plaisir à m'éduquer en taxonomie! Arianne, Betsy, Lacey et toute la gang de l'Université de Saint-John au Nouveau-Brunswick, vous m'avez, chacun à votre façon, aidé à cheminer tout au long de ce projet. Je tiens à remercier du fond du cœur Louis, mon amoureux, ma famille et mes ami(e)s, votre patience et votre écoute attentive m'a fait beaucoup de bien! Finalement, une attention toute particulière à mon petit garçon Éli qui m'a accompagné d'abord de l'intérieur puis de l'extérieur pendant ma rédaction, merci pour tes beaux sourires!





## RÉSUMÉ

Dans les dernières décennies, l'intérêt porté à la conservation de la biodiversité mondiale a considérablement augmenté en raison de nombreuses contraintes affectant la structure des communautés (y compris les extinctions) et l'abondance des espèces. En milieu marin, l'une des menaces les plus importantes pour la biodiversité est l'introduction d'espèces envahissantes. Un programme de monitoring de la biodiversité a récemment été mis en place afin de tester l'utilisation de "collecteurs" pour surveiller la biodiversité des invertébrés marins colonisant les substrats rocheux dans les eaux peu profondes de la zone subtidale de quatre régions du sud-ouest de la Baie de Fundy, récemment identifiées comme des Zones d'Importance Écologique et Biologique. Cette étude avait pour objectifs: 1) la caractérisation de la biodiversité des invertébrés recrutés dans les collecteurs (les « settlers » et les « crawl-ins ») avec la technique du codebarre génétique et 2) la comparaison du recrutement des espèces endémiques, ainsi que l'espèce envahissante *Ciona intestinalis* sur des galets naturellement colonisés dans le bas intertidal (substrat naturel) et des galets de carrière dénudés d'organismes (substrat artificiel). La caractérisation génétique des spécimens (70 espèces) a été réalisée dans un « hotspot » de biodiversité du sud-ouest de la baie de Fundy, soit le site The Wolves. L'ADN de la région conservée du gène CO1 (ou 18S lors d'échec d'amplification du gène CO1) de plus de 50 espèces a pu être amplifié en utilisant un total de 30 amorces. Le succès de séquençage total a été de 66,6%. Une grande concordance entre les identifications des espèces faites sur les bases génétiques et de la morphologie a été notée, bien que nous ayons décelé un certain manque de concordance pour les cnidaires (faibles taux d'évolution de l'ADN mitochondrial) et pour certains individus juvéniles. Pour le deuxième objectif, 16 collecteurs remplis de galets ont été immergés dans la zone subtidale peu profonde à Beaver Harbour, dont 8 représentaient le substrat artificiel et 8 autres le substrat naturel. Des analyses multivariées ont démontré un effet significatif du type de substrat sur la structure des communautés lorsque les données non transformées ont été analysées, mais aucun effet significatif du type de substrat lorsque l'analyse a été menée à partir d'une matrice de données présence / absence, indiquant que le type de substrat affecte principalement l'abondance des espèces retrouvées dans les collecteurs, mais peu (ou pas) leur identité. Par la suite, un test T de Student a démontré une plus grande abondance de l'ascidie *Ciona intestinalis* dans les cages remplies de galets de carrière par rapport aux cages remplies de galets de la zone intertidale. Ce projet a aidé au développement des collecteurs comme un outil de suivi de la biodiversité marine et a permis de démontrer l'importance des identifications génétiques en complément à la taxonomie traditionnelle.

Mots clés : Biodiversité marine, codebarre génétique, substrat, colonisation, recrutement, espèce invasive, biofilm.

## ***ABSTRACT***

In recent decades, the importance given to the conservation of global biodiversity has considerably increased due to the many stresses affecting community structure (including extinctions) and species abundance. In the marine environment, one of the most significant threats to biodiversity is the introduction of invasive species. A program has recently been developed to monitor biodiversity in four regions of the southwest Bay of Fundy, identified by Fisheries and Oceans Canada as Ecological and Biological Significant Areas (EBSAs). Under this program, we tested the use of "collectors" (91 x 61 x 15 cm with 37 mm mesh) to monitor the biodiversity of marine invertebrates that live on rocky substrates in the shallow ( $\leq 10$  m) subtidal zone. In this study we address two objectives: 1) characterizing the biodiversity of invertebrates colonizing the collectors (settlers and "crawl-ins") with DNA barcoding and 2) comparing the recruitment of endemic species as well as the invasive species *Ciona intestinalis* on naturally colonized cobble from the low intertidal and bare cobble from a quarry. Genetic characterization of specimens (70 species) was performed in a known biodiversity hotspot of the southwest Bay of Fundy. The DNA of more than 50 species was amplified using a total of 30 primers of the conserved CO1 gene (or 18S when CO1 failed to amplify). The total sequencing success rate was 66.6%. There was high agreement in species identification done on the basis of DNA barcoding and morphology, although we did find some disagreement for cnidarians (low rates of mitochondrial evolution) and for some very young settlers. For the second objective, 16 collectors filled with cobbles (diameter  $\approx 10$  cm) were submerged in the shallow subtidal zone in Beaver Harbour from May to October 2011, 8 of which were filled with bare quarry cobble and 8 with colonized lower-intertidal cobbles. Multivariate analyses (ANOSIM) were performed using PRIMER 6, which indicated a significant effect of substrate type on community structure when non-transformed data were analysed, but no significant effect of substrate type when the analysis was conducted on presence/absence data, indicating that substrate type affected the abundance of species found in the collectors more so than the identity. Subsequently, a Student t-test showed a higher abundance of the tunicate *Ciona intestinalis* in cages with barren rocks compared to cages filled with cobbles from the intertidal zone. This project has contributed to the development of the collectors as a tool for monitoring marine biodiversity and demonstrated the importance of genetic identifications in complementing more traditional taxonomic identifications.

*Keywords:* Marine invertebrates, DNA barcoding, biofouling, bare substrate, biofilm, settlers, recruitment.



## ***TABLE DES MATIÈRES***

<b>REMERCIEMENTS .....</b>	<b>viii</b>
<b>RÉSUMÉ .....</b>	<b>x</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xi</b>
<b>TABLE DES MATIÈRES.....</b>	<b>xiii</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>xvi</b>
<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>xvii</b>
<b>INTRODUCTION GÉNÉRALE.....</b>	<b>1</b>
<b>La biodiversité marine menacée .....</b>	<b>2</b>
<b>Problématique.....</b>	<b>4</b>
<b><i>LES AIRES MARINES PROTEGEES .....</i></b>	<b>4</b>
<b><i>SURVEILLANCE DE LA BIODIVERSITE MARINE .....</i></b>	<b>7</b>
<b><i>LE CODEBARRE GENETIQUE .....</i></b>	<b>9</b>
<b>Principaux objectifs.....</b>	<b>10</b>
<b>CHAPITRE 1 Évaluation de la biodiversité des macroinvertébrés benthiques marins     de substrat rocheux.....</b>	<b>13</b>
<b>1.1 INTRODUCTION .....</b>	<b>13</b>
<b>1.2 METHODOLOGIE.....</b>	<b>19</b>
<b>1.2.1 Zone d'étude.....</b>	<b>19</b>
<b>1.2.2 Prélèvement des taxons .....</b>	<b>20</b>
<b>1.2.3 Extraction, amplification et séquençage de l'ADN.....</b>	<b>20</b>
<b>1.3 RESULTATS.....</b>	<b>24</b>
<b>1.3.1 Amplification de l'ADN .....</b>	<b>24</b>

1.3.2	Séquences génétiques.....	25
1.3.3	Concordance entre les identifications morphologiques et génétiques .....	26
1.3.4	Découverte de nouvelles séquences ADN .....	29
1.4	DISCUSSION.....	31
1.4.1	Concordance entre les identifications morphologiques et génétiques .....	31
1.4.2	Problèmes liés à la qualité de l'ADN, à l'amplification ou au séquençage de l'ADN.....	33
1.4.3	Les avantages et les inconvénients des deux méthodes d'identification utilisées .....	35
1.4.4	Vers le codebarre environnemental .....	39
1.5	CONCLUSION.....	40
CHAPITRE 2 Effet de deux types de substrats sur le recrutement des espèces benthiques endémiques et de l'espèce allochtone <i>Ciona intestinalis</i> .....		41
2.1	INTRODUCTION .....	41
2.1.1	Comportement larvaire pré-métamorphose .....	42
2.1.2	<i>Ciona intestinalis</i> , une espèce envahissante .....	42
2.1.3	Hypothèse d'Elton (1958).....	43
2.1.4	Principaux objectifs.....	44
2.2	METHODOLOGIE .....	45
2.2.1	Les particularités de la Baie de Fundy .....	45
2.2.2	Région et zone d'étude .....	46
2.2.3	Échantillonnage .....	47
2.2.4	Traitement des collecteurs .....	48
2.2.5	Identification et mesures des invertébrés .....	49
2.2.6	Analyses statistiques et traitement des données.....	50
2.3	RESULTATS.....	51
2.3.1	Structure des communautés de la macrofaune benthique.....	54

2.3.2	Effet du type de substrat sur le recrutement des « settlers » uniquement.....	61
2.3.3	Effet du type de substrat sur le recrutement des « crawl-ins » uniquement.....	66
2.3.4	Effet du type de substrat sur le recrutement de l'espèce allochtone <i>Ciona intestinalis</i> .....	73
2.4	DISCUSSION .....	75
2.4.1	Effet du type de substrat sur le recrutement des espèces endémiques.....	75
	CHOIX DU TYPE DE SUBSTRAT A PRECONISER POUR LES ETUDES ULTERIEURES.....	75
	DIFFERENT PATRONS DE COLONISATION CHEZ LES ORGANISMES « CRAWL-INS ».....	77
	CARACTERISTIQUES DU SUBSTRAT .....	78
	LE CAS DU POLYCHETE <i>CIRCEIS SPIRILLUM</i> .....	79
	EFFET DE LA PRESENCE D'ALGUES CORALLINES ET DU BIOFILM.....	81
2.4.2	Effet du type de substrat sur le recrutement de l'espèce allochtone <i>Ciona intestinalis</i> .....	83
	CARACTERISATION DE LA POPULATION DE <i>CIONA INTESTINALIS</i> .....	83
	EFFET DU TYPE DE SUBSTRAT SUR LE RECRUTEMENT DE <i>CIONA INTESTINALIS</i> .....	83
	THEORIE DE LA BIODIVERSITE-STABILITE D'ELTON (1958).....	84
2.5	CONCLUSION .....	87
	CONCLUSION GÉNÉRALE.....	88
	ANNEXES .....	96
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	108

## *LISTE DES TABLEAUX*

Tableau 1. Tableau descriptif des amorces utilisées pour les amplifications de chaque groupe d'espèces .....	22
Tableau 2. Tableau récapitulatif des succès d'amplification des fragments de gène CO1 et 18S pour chaque groupe d'invertébrés .....	25
Tableau 3. Liste des nouvelles séquences absentes de BOLD et/ou GENBANK selon le gène amplifié .....	30
Tableau 4. Résultats des analyses de similarité (ANOSIM) comparant les communautés d'invertébrés retrouvées dans les collecteurs remplis de galets de carrière (artificiel) et de galets de la zone intertidale (naturel) selon différentes transformations des données .....	56
Tableau 5. Résultats de l'analyse de similarités par pourcentage (SIMPER) réalisée à partir des données non transformées. Les espèces marquées d'un astérisque sont les seules à avoir décrit des différences d'abondances statistiquement significatives .....	57
Tableau 6. Résultats de l'ANOSIM suite aux transformations des données de « settlers » exclusivement.....	63
Tableau 7. Résultats de l'Analyse de similarité par pourcentage (SIMPER) sur les "settlers" exclusivement .....	64
Tableau 8. Résultats des analyses de similarité ANOSIM suite aux diverses transformations des données de « crawl-ins ».....	67
Tableau 9. Résultats de l'analyse de similarité par pourcentage (SIMPER) réalisée à partir d'une matrice présence/absence des organismes rampants. ....	679



## ***LISTE DES FIGURES***

- Figure 1. Localisation de la région The Wolves, où ont été déployés les six collecteurs pour les identifications spécifiques en 2010. L'emplacement des six collecteurs est identifié par les données de latitude longitude.....19
- Figure 2. Concordance (%) des identifications morphologiques et génétiques. Le nombre d'espèces pour lesquelles il y a eu concordance entre les identifications sur le nombre d'espèces comparées est inscrit au-dessus de chaque phylum .....26
- Figure 3. Nombre d'espèces séquencées (gris foncé) ainsi que le nombre de nouvelles séquences (espèce) absente de GenBank et BOLD (gris pâle) pour chaque phylum.....29
- Figure 4. Localisations des collecteurs déployés à Beaver Harbour (West Lighthouse) en 2011. Les cercles verts et oranges représentent respectivement les collecteurs remplis de galets de carrière et ceux remplis de galets de la zone intertidale .....46
- Figure 5. Exemple d'un galet tiré aléatoirement dans la section centrale pour effectuer le décompte des organismes encroûtants. ....47
- Figure 6. Exemple d'un collecteur divisé en 3 sections (image de droite) et du plateau de maille inférieur retrouvé au fond de chaque collecteur (image de gauche) utilisé lors de l'échantillonnage d'octobre 2011.....49
- Figure 7. Histogramme d'abondance des espèces présentes sur les galets de la zone intertidale au Temps 0 de l'expérience. L'axe des y a été coupé à 100 pour une meilleure représentation des données, et les valeurs supérieures à 100 sont notées au-dessus de chaque bande .....52

- Figure 8. Boîte à moustache illustrant l'abondance des espèces retrouvées selon le type de substrat colonisé : (A) les 2 types de substrats (Min : 1 ; Max : 38 761 ; Moyenne : 471,18 ; Médiane : 11 ; Q1-Q3 : 5-32) ; (B) le substrat Artificiel uniquement (Min : 1 ; Max : 6 ; Moyenne : 1,58 ; Médiane : 1 ; Q1-Q3 : 1-2) ; (C) le substrat Naturel uniquement (Min : 1 ; Max : 10 ; Moyenne : 2,21 ; Médiane : 1 ; Q1-Q3 : 1-2) ; les échelles d'abondance ont toutes été coupées à 100 et à 20 pour une meilleure comparaison des données..... 53
- Figure 9. Représentation spatiale non-métrique (nMDS) de la composition des communautés observées dans les collecteurs remplis de galets de carrière (artificiel) et de galets de la zone intertidale (naturel) à partir des données non transformées (panneau du-haut à gauche ; coefficient de stress = 0,1) et d'une matrice de présence/absence (panneau de droite ; coefficient de stress = 0,16). Les abondances d'espèces encroûtantes à T = 0 ont préalablement été soustraites des abondances finales notées sur les galets naturels ..... 54
- Figure 10. Histogramme de fréquence des différences d'abondances moyennes par espèce observées sur le substrat Artificiel par rapport à celles dénombrées sur le substrat Naturel (substrat artificiel-substrat naturel). La différence 0 correspond à la valeur médiane observée (en pointillés sur le graphique)..... 59
- Figure 11. Diagramme en boîte comparant les espèces de brouteurs plus abondantes sur les galets naturels et résultats du test Mann-Whitney détaillés dans la légende (*Stenosemus albus* (U Test = 26,0 ;  $p = 0,442$ ) ; *Strongylocentrotus droebachiensis* (U Test = 19,5 ;  $p = 0,183$ ) ; *Testudinalia testudibalis* (U Test = 4,0 ;  $p = 0,003$ ) ; *Tonicella rubra* (U Test = 1,0 ;  $p = 0,001$ ) ; *Tonicella marmorea* (U Test = 20,0 ;  $p = 0,163$ ) ..... 60
- Figure 12. Représentation spatiale non-métrique (nMDS) de la composition des communautés de « settlers » observées dans les collecteurs remplis de galets de carrière (artificiel) et de galets de la zone intertidale (naturel) à partir des données non transformées (panneau de gauche ; coefficient de stress = 0,09) et d'une matrice de présence/absence (panneau de droite ; coefficient de stress = 0,17). Les abondances d'espèces encroûtantes à T = 0 ont préalablement été soustraites des abondances finales notées sur les galets naturels ..... 61

- Figure 13. Histogramme de fréquence des différences d'abondances moyennes observées pour chaque espèce dans le substrat Artificiel par rapport à celles notées sur le substrat Naturel (substrat artificiel-substrat naturel). La différence 0 correspond à la valeur médiane observée (en pointillés sur le graphique) .....65
- Figure 14. Représentation spatiale (nMDS) de la composition des communautés de « crawl-ins » observées dans les collecteurs remplis de galets de carrière (artificiel) et de galets de la zone intertidale (naturel) à partir des données non transformées (panneau de gauche ; coefficient de stress = 0,09) et d'une matrice de présence/absence (panneau de droite ; coefficient de stress = 0,19) .....66
- Figure 15. Histogramme de fréquence des différences d'abondances moyennes observées pour chaque espèce dans le substrat Artificiel par rapport à celles notées sur le substrat Naturel (substrat artificiel-substrat naturel). La différence 0,125 correspond à la valeur médiane observée (en pointillés sur le graphique), qui est significativement différente de la valeur médiane attendue s'il n'y avait aucune différence entre les deux types de substrats. ....72
- Figure 16. Histogramme des fréquences de tailles du tunicier envahissant *Ciona intestinalis* observé dans les collecteurs remplis de galets de carrière (substrat artificiel) et de galets de l'intertidale (substrat naturel) .....73
- Figure 17. Relation entre l'abondance du tunicier *Ciona intestinalis* et la diversité spécifique en 2009 (galets de carrière :  $r = 0,355$ , dl : 22 ,  $p = 0,089$ ), en 2010 (galets de carrière :  $r = 0,474$ , dl : 15 ,  $p = 0,055$ ), et en 2011 (galets de l'intertidale :  $r = 0,570$ , dl : 6 ,  $p = 0,140$  ; galets de carrière :  $r = -0,321$ , dl : 6 ;  $p = 0,438$ ).....74



## INTRODUCTION GÉNÉRALE

La biodiversité se définit comme « la variabilité des organismes vivants de toutes origines, et des complexes écologiques dont ils font partie (Angel, 1993 ; cité par Little et Kitching, 1996). Elle peut être évaluée à trois niveaux différents. Tout d'abord la diversité génétique, soit la variabilité génétique intraspécifique, qui contribue à la capacité des espèces à se remettre suite à une perturbation (Goulletquer *et al.*, 2012). Ensuite, la diversité spécifique fait référence au nombre d'espèces présentes dans un assemblage donné. Finalement, la diversité des écosystèmes qui inclut à la fois la variabilité des organismes vivants (diversité génétique et spécifique) et des habitats (Goulletquer *et al.*, 2012). De plus en plus, on tente de décrire la biodiversité davantage en termes de diversité fonctionnelle, qui inclut à la fois les processus biologiques, les caractéristiques et les fonctions de l'écosystème. Ainsi, un écosystème ayant une grande diversité fonctionnelle saura mieux se rétablir suite à une perturbation puisqu'il est composé de plusieurs groupes fonctionnels différents et/ou le nombre de membres de chacun des groupes est plus important.

La biodiversité joue un rôle fondamental au niveau des écosystèmes marins puisque le maintien d'une bonne hétérogénéité contribue à la stabilité environnementale et à la résilience des communautés face aux perturbations, qu'elles soient d'origine anthropique ou naturelle (Hillebrand et Matthiessen, 2009). Une grande diversité d'espèces au sein d'un même assemblage favorise la stabilité de la communauté, mais elle ne garantit en rien son maintien suite à une éventuelle perturbation. Afin de résister à un bouleversement extérieur, une communauté doit être composée de plusieurs espèces, mais celles-ci doivent aussi à leur tour jouer différents rôles fonctionnels au sein de leur assemblage (Kaiser *et al.*, 2005). Certaines espèces sont dites redondantes, c'est-à-dire qu'elles remplissent les mêmes

fonctions au sein de leur environnement, si bien que le retrait de l'une d'entre elles aurait très peu de conséquence sur les fonctions locales de l'écosystème (Valdivia, 2008).

La biodiversité marine engendre plusieurs bénéfices économiques, tant au niveau des ressources alimentaires, des matériaux de construction (sable, gravier, etc.) et même de la médecine, grâce à l'exploitation des toxines et des produits naturels dérivés des virus et bactéries (Kaiser *et al.*, 2005). De plus, la biodiversité rend plusieurs services écologiques en assurant diverses fonctions au sein des écosystèmes marins. En plus de pourvoir à la stabilité des écosystèmes, elle participe au contrôle du CO<sub>2</sub> dans l'atmosphère, à la stabilité du climat ainsi qu'au recyclage des nutriments et l'élimination des déchets (Duffy *et al.*, 2013).

### **La biodiversité marine menacée**

Les océans couvrent près de 72% de la surface planétaire et ils constituent un énorme réservoir de biodiversité offrant une grande diversité d'habitats marins (Amar, 2010). Près de 8% de toute la surface océanique se retrouve dans les zones côtières qui abritent 40% de la biomasse marine (Burke *et al.*, 2001; Trigui, 2009). La biodiversité marine peut être influencée par des facteurs biotiques et abiotiques présents dans la communauté (brouleurs, prédateurs), mais aussi par des facteurs abiotiques comme la température, la salinité et la bioturbation (Little et Kitching, 1996). Ces zones de forte productivité sont malheureusement soumises à d'importants stress de par la présence humaine en constante croissance (Amar, 2010). Effectivement, la plupart des assauts à la biodiversité touchent davantage les milieux côtiers et sont une conséquence directe de la proximité avec la population humaine et sa démographie (Gray, 1997).

L'être humain dépend des habitats marins pour l'acquisition de nourriture, le logement, les loisirs ainsi que le stockage des déchets (Goulletquer *et al.*, 2012). L'Organisation des Nations Unies (ONU) estimait la population mondiale à 7,16 milliards en 2013 et prédit qu'en 2050, nous serons plus de 9,5 milliards d'habitants. Si l'on estime que 60 % de la population mondiale réside à moins de 100 km des côtes, il est inévitable que les habitats côtiers soient soumis aux dérangements anthropiques. Diverses menaces

contribuent à modifier les assemblages benthiques telle la surexploitation des ressources marines, les changements climatiques, le tourisme et la pollution (Archambault *et al.*, 2010; Clynick *et al.*, 2009; Gray, 1997; Jackson *et al.*, 2001; O'Hara *et al.*, 2010). Les habitats de substrat rocheux sont parmi les plus diversifiés et les plus productifs des zones tempérées (Airoidi *et al.*, 2009). Le dragage des fonds marins, tout comme l'élaboration d'infrastructures comme des quais, des marinas, des enrochements ou l'érosion/accrétion naturelle des berges peuvent mener à l'extinction locale d'espèces natives et/ou favoriser l'établissement d'espèces allochtones au détriment des espèces autochtones (Airoidi *et al.*, 2008). Ces structures anthropogéniques offrent généralement un refuge exempt de prédateurs pour les espèces exotiques, contribuant ainsi à l'établissement de ces communautés généralement indésirables (Bax *et al.*, 2003). De ce fait, les communautés natives doivent fréquemment entrer en compétition avec les espèces allochtones, soit pour l'acquisition de nutriments, soit pour l'espace disponible (Davis, 2009). Les espèces sessiles de substrats durs sont d'autant plus vulnérables à la perte d'espace puisqu'elles demeurent confinées à un seul et même endroit dès leur métamorphose et pour leur vie toute entière. La modification des habitats côtiers peut donc fortement affecter la biodiversité présente, mais la perte d'habitat demeure la menace la plus importante (Gray, 1997).

D'autre part, la croissance rapide du transport maritime accentue la répartition de nouvelles espèces auparavant confinées dans d'autres régions. Un seul bateau peut transporter à lui seul plus de 150 000 tonnes d'eau de ballast pour maintenir sa stabilité (Ruiz *et al.*, 1997). Ces eaux de ballast proviennent généralement de baies ou d'estuaires et renferment une grande diversité d'organismes au stade planctonique (Gollasch *et al.*, 2009). Non seulement les eaux de ballast permettent le transport d'espèces allochtones, mais le « biofouling » aussi, soit l'accumulation d'organismes vivants sur la coque et autres surfaces des bateaux (Pappal, 2010). Le transport maritime accroît la dispersion des espèces non natives, mais d'autres facteurs favorisent aussi leur implantation. D'abord, l'altération des habitats et la construction d'infrastructures, en perturbant les communautés présentes, offrent aux nouveaux arrivants des espaces libres à coloniser. De la même façon, la

pollution et les changements climatiques peuvent rendre les conditions environnementales moins favorables à la survie des espèces natives, permettant aux espèces plus tolérantes, comme les espèces envahissantes, de survivre (Rilov et Crooks, 2009). Il a été démontré que la présence d'espèces introduites altère la composition des communautés benthiques ainsi que les interactions écologiques au sein du groupement envahi (Dijkstra et Harris, 2009). Les dommages causés par la colonisation d'espèces envahissantes sur la survie des espèces natives et des écosystèmes incluent une altération des relations de compétition et des prédateurs/proies, du parasitisme ainsi qu'une modification de leurs habitats (Klassen, 2012). Ces atteintes se traduisent habituellement par des pertes de biodiversité importantes (IUCN, 2000; cité par Klassen, 2012).

Plusieurs espèces marines sont aujourd'hui considérées vulnérables ou disparues localement. Comme par exemple, les poissons marins dont 90 pourcent des grands prédateurs sont aujourd'hui disparus des Océans Atlantique, Pacifique et Indien suite à l'apparition de la pêche industrielle (Myers et Ottensmeyer, 2005). Plusieurs facteurs accentuent la fragilité des populations d'espèces comme une maturité sexuelle tardive et une faible fécondité, tout comme le fait d'être adapté exclusivement à un environnement exempt de perturbations (Myers et Ottensmeyer, 2005). Plusieurs écosystèmes marins n'arrivent plus à absorber les stress induits par l'homme (Agardy, 2010 ; cité par Craig et Hughes, 2012). En effet, certains écosystèmes auraient perdu leur résilience suite à de trop grandes et récurrentes perturbations (Craig et Hughes, 2012).

## **Problématique**

### *Les aires marines protégées*

Il est important et urgent de mettre sur pied des mesures afin de protéger ces milieux altérables et essentiels. Malheureusement, beaucoup d'efforts investis dans la conservation des espèces marines visent principalement les espèces en péril ou commercialement exploitées, lesquelles représentent une minime fraction de la biodiversité marine. Beaucoup plus d'attention en conservation est dirigée vers la mégafaune, les espèces charismatiques ou commerciales. Une étude portant sur les efforts de conservation pour 1568 espèces



marines étudiées a confirmé qu'aucune des 536 espèces d'invertébrés considérées dans leur échantillonnage en 2012 n'ont obtenu l'attention de l'Union internationale pour la conservation (UICN) comparativement à 100% des espèces de tortues marines par exemple (McClenachan *et al.*, 2012). Beaucoup d'évaluations de statut des espèces marines ont considéré principalement les espèces bien documentées ou exploitées commercialement, lesquelles représentent une infime proportion de la biodiversité marine dans son ensemble (Gaston et Fuller, 2008; McClenachan *et al.*, 2012). Les différents types d'assemblages, d'habitats et d'écosystèmes sont pourtant souvent modélés par l'identité des espèces communes présentes, n'excluant pas la grande influence des espèces rares sur leur milieu (Gaston et Fuller, 2008).

Comparativement aux mesures prises en milieu terrestre, il est plus difficile de délimiter et de bien gérer les zones océaniques à protéger (Agardy, 2010). Les systèmes marins sont dynamiques, mais les plans de gestion élaborés, sont souvent statiques. C'est pourquoi le Ministère des Pêches et des Océans du gouvernement canadien a élaboré une stratégie fédérale sur les aires marines protégées (Gouvernement du Canada, 2011). Le réseau d'aires marines protégées comprend trois programmes desquels les zones de protection marines (ZPMs) font partie intégrante. La mise sur pied des ZPMs vise à protéger et conserver des habitats d'espèces menacées, des zones d'intérêt particulier ou de caractéristiques uniques, de forte productivité ou de grande biodiversité. Le gouvernement canadien vise à accroître la résilience écologique et à contrer les facteurs de stress par l'élaboration d'aires marines protégées (AMPs). Le réseau de gestion des AMPs définit 12 biorégions océaniques et la Baie de Fundy s'inscrit dans la biorégion de la plate-forme Écossaise (MPO, 2011). Afin d'attirer l'attention sur certaines zones sans toutefois les reconnaître comme des AMPs, le Ministère de Pêches et Océans Canada a identifié des Zones d'Importance Écologique et Biologique (ZIEB), pour lesquelles une surveillance plus accrue permettrait de protéger l'ensemble de la structure et des fonctions de l'écosystème (MPO, 2004).

Chaque ZIEB a été déterminée selon trois critères (Buzeta et Singh, 2008; MPO, 2011) :

1. L'unicité/rareté : le degré auquel cette région est unique, rare, distincte
2. La concentration : des individus d'une espèce, de différentes espèces, de caractéristiques structurales ou de processus océaniques dans cette région (reproduction, migration)
3. Les conséquences sur la valeur adaptative « fitness » : le degré auquel cette région est intacte et abrite des espèces natives

Dans la Baie de Fundy, 16 ZIEBs ont été identifiées et quatre d'entre elles sont situées dans la portion Sud-ouest de la baie, plus précisément, dans l'ensemble de Quoddy (MPO, 2012). C'est une région riche et productive comprenant des écosystèmes très diversifiés (Archambault *et al.*, 2010). À chaque marée descendante, l'eau tend à se retirer de la Baie, alimentant en nutriments les côtes du sud-ouest. En contrepartie, la biodiversité de cette région est aussi soumise à différents stress anthropiques, tel que l'accroissement de l'industrie aquacole marine. Les rejets biologiques et l'utilisation de biocides peuvent limiter la croissance et la survie des invertébrés benthiques (Pohle *et al.*, 2001). Conjointement, des pertes de biodiversité à l'échelle locale ont pu être reliées à la production aquacole (Pohle *et al.*, 2001).

Le transport maritime est aussi très actif dans cette région dû à la présence du port maritime de Saint-John. Ce va-et-vient naval permet à plusieurs espèces exotiques de faire leur apparition dans la Baie de Fundy. À titre d'exemple, en 2010, près de 64 espèces envahissantes étaient répertoriées dans le Golfe du Maine (Pappal, 2010). L'une des espèces de tuniciers envahissants qui est aujourd'hui très répandue dans les eaux Atlantiques est *Ciona intestinalis*. Cette ascidie solitaire est une importante compétitrice puisqu'elle est très tolérante aux fluctuations de la salinité et de la turbidité, a une croissance rapide, atteint sa maturité rapidement et démontre souvent une très forte fécondité (Blum *et al.*, 2007; Carver *et al.*, 2006; Carver *et al.*, 2003; Zhan *et al.*, 2010). C'est aussi une grande nuisance pour l'industrie maricole, principalement celle de la moule

bleue (*Mytilus edulis*) puisqu'elle prolifère sur les structures verticales, souvent exemptes de prédateurs et entre en compétition avec ce bivalve filtreur pour la nourriture disponible. Plusieurs études traitant des effets de la biodiversité sur le succès d'invasion de *C. intestinalis* ou autres tuniciers envahissants ont été réalisées à l'aide de panneaux de PVC, de céramique ou de verre (Byrnes et Stachowicz, 2009; Clark et Johnston, 2011; Nydam et Stachowicz, 2007; Sams et Keough, 2012; Stachowicz *et al.*, 2002; Valdivia, 2008). Ces panneaux ne représentent toutefois pas un substrat naturel, la surface étant trop homogène et lisse tandis que l'utilisation de substrats naturels plus complexes permettrait entre autre de déterminer la réelle étendue de cette ascidie sur les peuplements benthiques (Davis, 2009).

#### *Surveillance de la biodiversité marine*

Afin de préserver ces écosystèmes si diversifiés, il est primordial de développer des outils permettant d'effectuer un suivi efficace de la biodiversité des organismes benthiques marins de cette baie. L'évaluation de la composition des communautés benthiques de substrat meuble est plus facilement mesurable de façon quantitative que celles de substrat rocheux, puisqu'elle permet l'emploi de matériel tel une benne ou un carottier (Anastasios, 2013). Les inventaires réalisés en zone peu profonde de substrat rocheux peuvent être effectués *in situ* par un plongeur (Gallon *et al.*, 2013; Pohle et Thomas, 1997). Cette méthode, très peu intrusive, s'effectue habituellement à l'aide de quadrats posés directement sur le substrat. L'observateur peut estimer directement le pourcentage de recouvrement/abondance de chaque espèce à l'intérieur de chaque quadrat ou recueillir les organismes fixés au substrat (Anastasios, 2013; Gallon *et al.*, 2013). De nos jours, les avancées technologiques nous permettent d'effectuer les observations par photoquadrats (Smale *et al.*, 2010). Ces images à haute-résolution, tout comme l'utilisation d'un véhicule sous-marin automatisé, offrent une détection rapide des changements spatio-temporels de la composition des assemblages benthiques à l'échelle régionale, mais requiert l'acquisition de matériel très coûteux (Smale *et al.*, 2010, 2012). L'identification et le dénombrement des espèces captées présentent habituellement une bonne précision, à l'exception des espèces coloniales comme les tuniciers qui peuvent être sous-estimées (Pohle et Thomas, 1997). Par

ailleurs, la présence obligée d'un plongeur risque d'influencer la distribution de la faune vagile (Mallet et Pelletier, 2014). L'avantage principal de ces outils est de ne pas extirper les organismes de leur environnement naturel pour en effectuer le décompte. En contrepartie, ils ne capturent qu'une faible proportion des espèces de communautés de substrat complexe, surtout les espèces de très petites tailles et les espèces cryptiques. D'autres auteurs optent pour l'utilisation de drague ou de chalut, selon la topographie des fonds marins, même si chaque prélèvement représente un événement très perturbateur pour les communautés benthiques établies (Carr *et al.*, 2011; Dettai *et al.*, 2011).

Le présent projet s'insère dans un programme visant à développer un outil et un protocole de suivi de la biodiversité marine de régions préalablement identifiées comme des ZIEBs. Il s'agit de cage de colonisation des invertébrés marins, soit des « collecteurs » d'organismes. Chacun d'eux est déposé sur le substrat rocheux suffisamment longtemps ( $\approx 4$  mois) pour permettre la colonisation des macroinvertébrés puis est repêché à l'automne. Ce dispositif permettra de surveiller la biodiversité marine de façon très standardisée en évaluant le recrutement des espèces benthiques. Dans le contexte de la présente étude, le recrutement benthique se définit par l'ensemble des processus de colonisation et de post-colonisation (survie post métamorphose), soit les individus ayant colonisé le substrat (s'étant fixé) et ayant survécu pour une période de temps variable suite à leur métamorphose. Ainsi, ces deux termes, colonisation et recrutement, seront utilisés de manière interchangeable dans le présent ouvrage. Comparativement aux outils de recensement mentionné ci-haut, les collecteurs permettent non seulement de prélever un grand nombre d'organismes, mais aussi de les collecter à divers stades de leur vie. Ainsi, par ce projet, on recense la biodiversité des espèces d'invertébrés marins qui se sont fixés d'eux-mêmes au substrat rocheux (settlers) lors de leur métamorphose ainsi que ceux qui ont migré dans les collecteurs suite au déploiement (crawl-ins).

Contrairement à l'utilisation de chalut ou de drague, ce dispositif laisse une très faible empreinte écologique puisqu'aucune destruction du milieu n'est induite. Chaque collecteur est rempli de galets soigneusement choisis de façon à recréer le plus naturellement possible

l'hétérogénéité et les anfractuosités du substrat rocheux. Par ailleurs, l'utilisation de « collecteurs » comme outil de récolte permet de cibler un processus important du cycle de vie des invertébrés sessiles, soit le recrutement. Les apports/transport larvaires, la colonisation (phase de recherche et de fixation au substrat), la métamorphose et la survie post-fixation des individus influence le succès de recrutement des espèces (Hunt et Scheibling, 1997; Jenkins *et al.*, 2009). Le recrutement est donc un processus déterminant la structure des communautés marines qui peut être grandement affecté par les perturbations. Puisque les organismes viennent d'eux-mêmes se fixer au substrat, les collecteurs permettent d'évaluer l'impact de diverses perturbations sur le recrutement larvaire des espèces benthiques présentes. Ainsi, l'utilisation des collecteurs permettra de suivre la répartition spatiale et temporelle des populations d'invertébrés marins. La détection rapide de variations dans le recrutement des espèces benthiques permettra d'avoir un portrait global de l'état de santé et par le fait même de la biodiversité des différentes régions étudiées. De plus, cet outil permettra la détection rapide et l'étendue des espèces allochtones, comme les tuniciers envahissants par exemple. Parallèlement, l'identification des zones de fort recrutement pourrait participer au maintien des populations locales en diminuant rapidement le niveau de stress anthropique dans ces zones.

#### *Le codebarre génétique*

Dans un souci de conservation et de recensement de la biodiversité marine, la reconnaissance et la discrimination des espèces représentent le fondement de base des écosystèmes (Bucklin *et al.*, 2011). Comparativement à l'identification morphologique, la méthode du codebarre génétique est plus sensible, surtout en milieu marin où l'on rencontre beaucoup d'espèces cryptiques ; elle permet l'identification d'espèces possédant peu de critères morphologiques utiles pour la différenciation spécifique (Bucklin *et al.*, 2011; Hebert *et al.*, 2003a; Valentini *et al.*, 2009; Zhan *et al.*, 2010). L'utilisation du codebarre génétique comme outil d'identification permettra l'identification des individus nouvellement fixés, trop immatures pour être identifiés exclusivement sur les bases morphologiques. Cet outil génétique pourra permettre de cibler les groupes d'espèces plus

problématiques pour ensuite évaluer les échelles spatiales appropriées pour la conservation (Francis *et al.*, 2010).

### **Principaux objectifs**

Un programme a récemment été développé permettant d'effectuer un suivi de la biodiversité marine de quatre régions du sud-ouest de la Baie de Fundy, certaines ayant été identifiées par le Ministère de Pêches et Océans Canada comme étant des ZIEBs (MPO, 2011). Par ce programme, nous avons testé l'utilisation de « collecteurs » (91 x 61 cm avec des mailles de 37 mm) pour évaluer la biodiversité des invertébrés marins colonisant les substrats rocheux dans la zone subtidale peu profonde (entre 12,5 et 16,7 m). L'utilisation du codebarre génétique comme un outil d'identification des espèces marines complète les identifications morphologiques et rend l'utilisation des collecteurs un outil très complet et efficace. Les séquences obtenues pour chaque espèce récoltée dans la région du sud-ouest de la Baie de Fundy pourraient permettre la création d'une base de données des espèces recensées dans cette région afin d'avoir un portrait complet (morphologique et génétique) de chacune d'elles puisqu'elles ont toutes précédemment été identifiées morphologiquement par une taxonomiste.

#### *Évaluation de la biodiversité des macroinvertébrés benthiques marins de substrat rocheux*

Le premier objectif de la présente étude est de participer à la réalisation d'une liste des séquences d'ADN associées aux différentes espèces d'invertébrés benthiques marins afin de mettre en place une base de données du codebarre ADN du sud-ouest de la Baie de Fundy. L'objectif suivant sera de comparer les identifications des espèces prélevées connues (dans GenBank et BOLD) à celles préalablement réalisées à l'aide de clés d'identifications morphologiques afin de valider la taxonomie.

*Effet de deux types de substrats sur le recrutement des espèces benthiques endémiques et de l'espèce allochtone Ciona intestinalis*

Le deuxième objectif de la présente étude tente de valider l'utilisation des galets de carrière comme substrat dans les collecteurs. Pour ce faire, le recrutement des espèces endémiques et de l'espèce envahissante *Ciona intestinalis* sera comparé sur des galets naturellement colonisés dans la zone intertidale et sur des galets dénudés d'organismes provenant d'une carrière.

Dans un deuxième temps, une hypothèse de base, soit la théorie d'Elton (1958) quant au succès d'invasion des espèces exotiques soutient que les communautés les plus diversifiées devraient être plus résistantes face à l'invasion (Benedetti-Cecchi, 2006; Kennedy *et al.*, 2002; Levine et D'Antonio, 1999; Stachowicz *et al.*, 1999, 2002). Cette hypothèse stipule que la diversité spécifique d'un assemblage peut diminuer, indirectement, le recrutement ainsi que la fixation des larves de l'espèce exotique envahissante. C'est pourquoi, selon cette hypothèse, un milieu très diversifié devrait être plus stable puisque la variabilité des espèces composant cette communauté permet de tolérer les perturbations ou les pressions de changement induites sur cet écosystème. Le dernier objectif permettra de vérifier la théorie d'Elton (1958) sur la résistance à l'invasion, en vérifiant si le recrutement de l'espèce allochtone *Ciona intestinalis* est limité par la biodiversité du milieu en comparant a posteriori les données d'abondances de *C. intestinalis* recensées en 2009, 2010 et 2011 avec les diversités observées dans ces mêmes cages.





# CHAPITRE 1

## ÉVALUATION DE LA BIODIVERSITÉ DES MACROINVERTEBRÉS BENTHIQUES MARINS DE SUBSTRAT ROCHEUX

### 1.1 INTRODUCTION

Malgré plus de 250 ans d'études taxonomiques, la grande majorité de la diversité biologique demeure encore aujourd'hui très peu décrite ou encore inconnue, d'une part en raison du nombre de plus en plus petit de taxonomistes, mais aussi en raison de la nature fastidieuse de la recherche (Scotland *et al.*, 2003). Afin de répondre à cette problématique, en 2003, Paul Hébert et son équipe ont mis en place un outil permettant de répertorier l'ensemble des espèces possédant des mitochondries en séquençant un petit fragment du génome mitochondrial des organismes (Hebert *et al.*, 2003a). Cette approche se nomme aujourd'hui « DNA Barcoding » ou codebarre génétique et permet d'identifier les espèces sur des bases moléculaires. Cette technique repose sur la divergence interspécifique entre les séquences d'un court fragment standard d'ADN mitochondrial (ADN<sub>mt</sub>) permettant l'identification des espèces connues, mais aussi la découverte de nouvelles espèces (Hebert *et al.*, 2003b; Vernooy *et al.*, 2010). La méthode du codebarre génétique consiste au séquençage d'un fragment d'ADN de 658 paires de bases du gène mitochondrial de la cytochrome oxydase de la sous-unité 1 (CO1) (Folmer *et al.*, 1994; Hebert *et al.*, 2003a). Ce gène est présent en plusieurs copies dans chaque cellule, ce qui le rend plus facile à amplifier à partir de petites quantités de tissus que l'ADN nucléaire (Galtier *et al.*, 2009). Différentes raisons supportent le choix de l'utilisation de l'ADN<sub>mt</sub> plutôt que l'ADN nucléaire comme outil d'identification des espèces. D'abord, l'ADN<sub>mt</sub> est généralement hérité de la mère et de ce fait, il n'y a pas ou peu de recombinaisons génétiques sur ce génome. De plus, le taux d'évolution de ce gène est très rapide due à

un taux de mutations élevé, ce qui permet la discrimination d'espèces très apparentées, voir même des populations divergentes d'une même espèce (Galtier *et al.*, 2009; Hebert *et al.*, 2003; Radulovici *et al.*, 2010). Dernièrement, l'absence d'introns, soit des régions non-codantes du génome facilitent l'alignement des séquences provenant d'espèces divergentes (Galtier *et al.*, 2009).

Le codebarre génétique a été lancé en 2004 par la création du « Consortium of Barcode of Life » (CBOL ; <http://barcodeoflife.org>). Aujourd'hui, le CBOL compte plus de 170 organisations membres réparties dans 50 différents pays (Bucklin *et al.*, 2011). Récemment, en partenariat avec le Census of Marine Life (CoML), le CBOL a initié une campagne internationale (MarBOL ; <http://www.marinebarcoding.org> et FISH-BOL ; <http://www.fishbol.org>) visant à répertorier (associé un codebarre génétique aux espèces) la biodiversité marine. Bucklin et collaborateurs mettent en lumière l'avancée des progrès récents quant à l'assignation d'un codebarre génétique aux espèces des métazoaires marins connues [selon les données de Bouchet (2006)], classées par phylum (Bucklin *et al.*, 2011). Cette compilation démontre que les chordés constituent le groupe des métazoaires pour lequel les progrès récents sont les plus marqués. Un codebarre génétique a déjà été assigné à 37% des espèces de chordés recensées jusqu'à présent. Le MarBOL et le FISH-BOL soutiennent que 68 % des 715 espèces d'oiseaux marins recensées internationalement posséderaient aujourd'hui un codebarre génétique, tout comme 34 % des 10 817 espèces de poissons connues et seulement 18% des 23 espèces de mammifères marins. En contrepartie, les bryozoaires, les hémichordés (tuniciers), les plathelminthes, les nématodes et les éponges sont autant de groupes pour lesquels à peine 2% des espèces connues possèdent maintenant un codebarre génétique. Pour d'autres phylums, tels les annélides (5,2 %), les arthropodes (7,6 %), les échinodermes (11,0 %) ainsi que les mollusques (9,2 %), les progrès sont à ce jour, légèrement plus importants (Bucklin *et al.*, 2011). Un total de 770 espèces de crustacés sont répertoriées dans l'estuaire et le Golfe du Saint-Laurent (Brunel *et al.*, 1998 ; cité par Radulovici *et al.*, 2009). En 2009, lors d'une étude portant exclusivement sur les amphipodes et les décapodes a

permis d'assigner un codebarre génétique à 82 d'entre elles (Radulovici *et al.*, 2009). D'autre part, 210 espèces de crustacés du Canada Atlantique sont aujourd'hui séquencées et listées dans BOLD (Radulovici et Dufresne, données non publiées). Malgré les améliorations réalisées à ce jour, beaucoup de travail reste à venir en ce qui a trait au codebarre génétique des métazoaires marins. Pour la plupart des groupes observés, les progrès récents se situent sous les 15%, ainsi plus de 85% des espèces connues restent encore à séquencer (Bucklin *et al.*, 2011). Sur le site web du MarBOL, les progrès indiqués pour l'ensemble du règne animal marin (domaines pélagiques et benthiques) se situent seulement à 11% des espèces connues.

Dernièrement, beaucoup d'efforts ont été mis dans la conservation de la biodiversité marine dû aux diverses menaces qu'elle subit via les activités d'origine anthropique (Amar, 2010; Archambault *et al.*, 2010; O'Hara *et al.*, 2010). Par contre, ces efforts sont majoritairement ciblés sur les espèces en péril plutôt que sur la biodiversité (Gaston et Fuller, 2008). L'utilisation d'une approche davantage écosystémique, jumelant la gestion et la surveillance des communautés marines, plutôt que le suivi d'une seule espèce à la fois doit être préconisée. En ce sens, la création de Réserves ou d'Aires marines protégées permet un certain contrôle des activités permises dans ces régions, mais leur élaboration coûte très cher (Kaiser *et al.*, 2005). Depuis 2004, dans un souci de gestion de la biodiversité marine, Pêches et Océans Canada vise à développer des Zones d'Intérêt Écologique et Biologique (ZIEB) basées sur divers critères tels la rareté de la zone d'intérêt, ses conséquences sur le fitness d'une ou plusieurs espèces et la concentration importante d'espèces (Buzeta et Singh, 2008). Conjointement, un programme de monitoring de la biodiversité marine dans le sud-ouest de la Baie de Fundy a été développé (CRSNG). Ce suivi a été réalisé grâce à l'utilisation de « collecteurs », un nouvel outil permettant la collecte standardisée des communautés d'invertébrés se fixant au substrat rocheux dans la zone subtidale. Les auteurs d'études similaires ont préconisé l'emploi de chaluts ou de drague, même si certaines de ces méthodes risquent de modifier les habitats échantillonnés (Carr *et al.*, 2011; Dettai *et al.*, 2011; Laforest *et al.*, 2013). D'autres ont préféré effectuer des

quadrats en plongée sous-marine; cette méthode laisse une faible empreinte sur l'environnement, mais demande beaucoup plus d'efforts de logistique dû à divers facteurs limitants (i.e. profondeur, courants, visibilité, temps d'échantillonnage limité). Comparativement à ces outils, les collecteurs permettent non seulement de prélever un grand nombre d'organismes, mais aussi de les collecter à divers stades de leur vie (larve, juvénile, adulte). Ainsi, pour l'une des premières fois, on recense la biodiversité des espèces d'invertébrés marins qui se sont fixés d'eux-mêmes au substrat rocheux lors de leur métamorphose ainsi que les individus qui ont migrés suite à leur métamorphose dans les collecteurs.

Dans le but de conserver et de recenser la biodiversité marine, il est primordial de savoir reconnaître et différencier les espèces marines. Les espèces symbolisent le fondement de base des écosystèmes et habituellement, l'étape d'identification demeure la plus longue et fastidieuse de la recherche puisqu'elle requiert la compétence de taxonomistes expérimentés (Bucklin *et al.*, 2011). Comparativement à l'identification morphologique, la méthode du codebarre génétique est plus sensible, surtout en milieu marin dû à la présence d'espèces cryptiques, et elle facilite l'identification d'espèces nouvellement apparues suite aux changements évolutifs (Bucklin *et al.*, 2011; Hebert, *et al.*, 2003b; Valentini *et al.*, 2009; Zhan *et al.*, 2010). De plus, elle permet l'identification des différents stades larvaires et des juvéniles, très difficiles à distinguer en taxonomie, ainsi que l'identification des espèces rares et de petits fragments d'organismes qui peuvent être impossible à identifier visuellement. Le codebarre génétique permet d'estimer non seulement la diversité génétique des espèces comprises dans un écosystème, mais aussi la diversité présente entre les individus d'une même espèce (Krishnamurthy et Francis, 2012). Ainsi, cet outil génétique pourrait permettre de cibler les groupes d'espèces plus problématiques pour ensuite évaluer les échelles spatiales appropriées pour la conservation (Francis *et al.*, 2010).

Ainsi, dans un but de recenser la biodiversité d'un échantillon l'un des désavantages de l'approche du codebarre génétique est qu'il devient rapidement prohibitif, du point de vue des coûts, d'identifier tous les individus d'un échantillon. Ce n'est pas non plus le but du codebarre génétique par séquençage Sanger. Toutefois, les nouvelles techniques de « codebarre environnemental » rendues possibles grâce au séquençage nouvelle génération permettent de séquencer simultanément tous les individus d'un échantillon. Si le but est simplement d'estimer la biodiversité en termes de richesse spécifique, il est possible d'évaluer le nombre d'unités taxonomiques moléculaires opérationnelles (MOTUs ou OTUs) (Heimeier *et al.*, 2010; Kress *et al.*, 2015; Laforest *et al.*, 2013). Par contre, les bases de données de séquences génétiques demeurent un prérequis pour identifier les différentes espèces d'un échantillon, si la question posée requiert leur reconnaissance taxonomique. À ce jour, l'utilisation de clés d'identification et de descriptions morphologiques demeure encore la façon la plus simple et la moins coûteuse pour identifier rapidement la majorité des organismes lorsque l'on possède les connaissances requises (Schander et Willassen, 2005). Ainsi, la comparaison entre ces deux techniques d'identification nous permettra de déterminer si les critères morphologiques utilisés sur les jeunes stades d'invertébrés permettent une bonne résolution de la biodiversité.

L'utilisation du codebarre génétique comme un outil d'identification des espèces marines nécessite la construction préalable d'une base de données de référence dans laquelle l'identification d'une espèce associée à un codebarre génétique est soigneusement validée par une équipe de taxonomistes professionnels (Francis *et al.*, 2010). C'est dans cette optique que les séquences obtenues pour chaque espèce récoltée dans la région du sud-ouest de la Baie de Fundy pourraient permettre la création d'une base de données des espèces recensées dans cette région afin d'avoir un portrait complet (morphologique et génétique) de chacune d'elles puisqu'elles ont toutes précédemment été identifiées morphologiquement par une taxonomiste. Ainsi, les objectifs de la présente étude sont de participer à :

- 1) Réaliser une liste des séquences d'ADN (mitochondrial et nucléaire) associées aux différentes espèces d'invertébrés benthiques marins échantillonnées par les collecteurs afin de mettre en place une base de données du codebarre ADN du Sud-ouest de la Baie de Fundy.
- 2) Comparer les identifications des espèces prélevées connues [dans GenBank et Barcode of Life Data System (BOLD)] à celles préalablement réalisées à l'aide de clés d'identifications morphologiques afin de valider la taxonomie.

## 1.2 METHODOLOGIE

### 1.2.1 Zone d'étude

La région à l'étude est située dans le sud-ouest de la Baie de Fundy au Nouveau-Brunswick, près de l'Île de Grand Manan (Figure 1, Annexe I). Cette région couvre plusieurs zones dont Beaver Harbour, Passamaquoddy Bay, West Isles et The Wolves, certaines ayant été désignées comme des ZIEBs par Pêches et Océans Canada. La majorité des échantillons utilisés pour le codebarre génétique ont été prélevés au site The Wolves étant donné l'importante biodiversité observée à ce site au cours des échantillonnages des années antérieures. Chacune des espèces récoltées a soigneusement été identifiée selon les critères morphologiques par la taxonomiste Marie-Josée Maltais de l'Université du Nouveau-Brunswick à Saint-John et validé par Gerhard Pohle du ARC (Atlantic Reference Center).

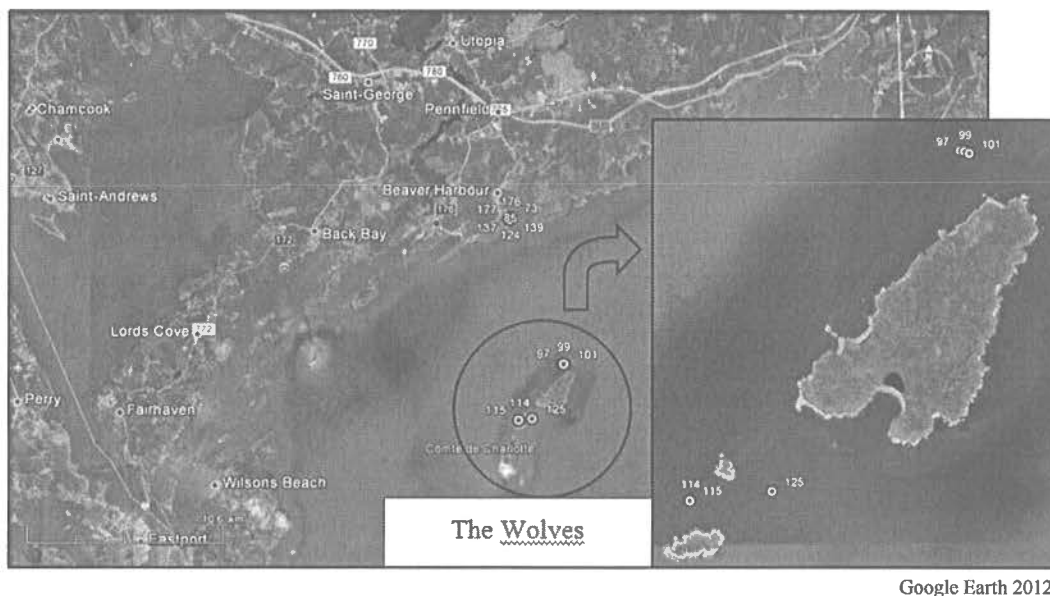


Figure 1. Localisation de la région The Wolves, où ont été déployés les six collecteurs pour les identifications spécifiques en 2010. L'emplacement des six collecteurs est identifié par les données de latitude longitude.

### 1.2.2 Prélèvement des taxons

Six collecteurs déployés au site The Wolves ont été remontés sur le bateau et conservés dans des bassins d'eau froide salée bien oxygénée le temps d'effectuer les prélèvements. Entre 1 et 9 individus de chaque espèce ont pu être prélevés. Pour plusieurs espèces un seul représentant a été récolté dû à leur faible occurrence dans les collecteurs échantillonnés. Chaque individu a été identifié sous loupe binoculaire par une taxonomiste chevronnée (Marie-Josée Maltais, UNBSJ) et immédiatement conservé dans l'éthanol anhydre à -20 °C afin de prévenir toute dégradation de l'ADN.

### 1.2.3 Extraction, amplification et séquençage de l'ADN

L'ADN des crustacés a été extrait avec le Kit E.Z.N.A.<sup>®</sup> Tissue DNA (OMEGA<sup>®</sup> Bio-tek, inc.) et Quick Extract selon les instructions du fabricant. Les autres extractions d'ADN ont été réalisées sur les tissus fixés à l'éthanol en utilisant un kit E.Z.N.A.<sup>™</sup> Mollusc DNA (OMEGA<sup>®</sup> Bio-tek, inc.) dont les tissus sont riches en mucopolysaccharides.

Un fragment du gène CO1 de 658 bp a été amplifié en utilisant la paire d'amorces universelles LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') et HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') proposées par Folmer *et al.* (1994). Dans le cas d'échec d'amplifications avec les amorces universelles Folmer, des amplifications supplémentaires ont été effectuées avec des amorces alternatives. Au total 28 amorces ont été testées pour l'ensemble des groupes d'invertébrés (Tableau 1). Toutes les réactions en chaîne par polymérase (PCR) avaient un volume total de 25 µl incluant : une concentration finale de 1X de tampon Econo Taq sans MgCl<sub>2</sub>, 2,2 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,025 mM de chaque dNTP, 18,25 µl d'H<sub>2</sub>O, 1,5 U de Taq polymérase (Invitrogen), 0,1 µM de chaque amorce et 2 µl d'ADN génomique. Les amplifications ont été réalisées à l'aide d'une Biometra UNO II thermoblock. Le régime thermique de la PCR consistait en un cycle de 1 minute à 94°C ; 5 cycles de 40 s à 94°C, 40 s à 45°C et 1 min à 72°C ; 35 cycles de 40 s à 94°C, 40 s à 51°C et 1 min



à 72°C et un cycle d'élongation finale de 5 min à 72°C. Dans le cas où ce programme n'était pas optimal, différents autres programmes PCR ont été utilisés (Tableau 1).

Un fragment du gène nucléaire 18S a aussi été amplifié afin d'accroître le nombre d'identifications. La paire d'amorces universelles E4F (5'-CTGGTTGATTCTGCCAGT-3') et E1628R (5'-CGACGGGCGGTGTGTA-3') (Van Hanne *et al.*, 1999 ; cité par Webb *et al.*, 2006) a été utilisée avec des conditions d'amplification de 5 min à 94 °C; 35 cycles de 1 min à 94 °C, 1 min à 55 °C, 1 min à 72 °C, et un cycle d'élongation finale de 10 min à 72 °C (Van Hanne *et al.*, 1999; Webb *et al.*, 2006). Chaque produit PCR a été visualisé sur gel d'agarose à 1,5% et les produits PCR ont été envoyés au séquençage.

Le séquençage a été effectué au Centre d'Innovation Génome Québec de l'Université McGill. Les paires d'amorces utilisées pour le séquençage étaient les mêmes que pour l'amplification. Toutes les séquences « forward » et « reverse » ont été assemblées puis nettoyées à l'aide du logiciel Sequencher 5.0. Les séquences obtenues ont été comparées aux séquences dans BOLD ainsi que dans GENBANK pour leur identification. Un BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) a été réalisé pour chaque séquence obtenue (Altschul, Gish, et Miller, 1990). Cette approche simple consiste en l'utilisation d'un score de similarité brute pour déterminer le plus proche voisin, en l'occurrence l'espèce, de la séquence investiguée (DeSalle, Egan, et Siddall, 2005). Dans le cas présent, seuls les scores de similarité supérieurs à 98 % ont été considérés. Ainsi, les séquences démontrant moins de 98% de similarité avec la série de nucléotides de nos séquences comparées n'ont pas été retenues.

Tableau 1. Tableau descriptif des amorces utilisées pour les amplifications de chaque groupe d'espèces

Gène	Amorce	Séquence 5' - 3'	Références
Tous les groupes			
18S	E4F	CTGGTTGATTCTGCCAGT	Van Hannen <i>et al.</i> , 1999
	E1628R	CGACGGCGGTGTGTA	
CO1	LC01490	GGTCAACAAATCATAAGATATTGG	Folmer <i>et al.</i> 1994
	HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	
	LC01490_T1	TGTAAACGACGGCCAGTGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	Footit <i>et al.</i> 2009
	HCO2198_T1	CAGGAAACAGCTATGACTAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	
Crustacés			
CO1	CRUSTF1	TTTTCTACAAATCATAAAGACATTGG	Costa <i>et al.</i> 2007
	HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	Folmer <i>et al.</i> 1994
	CRUSTF2	GGTCTTCTCCACCAACCACARGAYATHGG	Costa <i>et al.</i> 2007 ;
	HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	Folmer <i>et al.</i> 1994
	CRUSTDF1	GGTCWACAAAYCATAAAGAYATTGG	D. Steinke ;
	CRUSTDR1	TAAACYTCAGGRTGACCRARAAYCA	Non publié
Échinodermes			
CO1	EchinoF1	TTTCAACTAATCATAAGGACATTGG	Ward <i>et al.</i> , 2008
	COleR1	GCTCGTGRTCTACRTCCAT	
	EchinoF1	TTTCAACTAATCATAAGGACATTGG	Ward <i>et al.</i> , 2008
	HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	Folmer <i>et al.</i> 1994
	LCOech1AF1	TTTTTCTACTAAACACAAGGATATTGG	Costorphine, 2010
	HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	Folmer <i>et al.</i> 1994
Tuniciers et Cnidaires			
CO1	TUN_Foward	TCGACTAATCATAAAGATATTA	Stefaniak <i>et al.</i> , 2009
	TUN_Reverse2	AACTTGATTTTAAATTACGATC	
	TUN_Foward	TCGACTAATCATAAAGATATTA	Stefaniak <i>et al.</i> , 2009
	COlr877Asc	ACATCTATTCYTACASTAAATATG	
	CIONAINTTESTCOI-F1	GTCGTTGTTACTTCTCATGCAT	Monniot <i>et al.</i> , 2011
	CIONAINTTESTCOI-R1	CCGGATCAAAGAACGTAGTATTAAA	Stewart-Clark <i>et al.</i> , 2009

Tableau 1 (suite). Tableau descriptif des amorces utilisées pour les amplifications de chaque groupe d'espèces

Gène	Amorce	Séquence 5' - 3'	Références
Polychètes			
COI	PolyLCO	GAYTATWTTCAACAAATCATAAAGATATTGG	Carr <i>et al.</i> , 2010
	PolyHCO	TAMACTTCWGGGTGACCAARAATCA	
Mollusques			
COI	dgLCO-1490	GGTCAACAAATCATAAAGAYATYGG	Meyer, 2003
	dgHCO-2198	TAAACTTCAGGGTGACCAARAAYCA	
	GHalf	TCAACAAATCATAAAGATATYGG	Saunders, 2008
	GWSRx	ACTTCTGGRTGICCAARAAYCA	Saunders, Non publié
	Lep-F1	ATTCAACCAATCATAAAGATATTGG	Hebert <i>et al.</i> , 2004
	Lep-R1	TAAACTTCTGGATGTCCAAAAATCA	
Bryozoaires et Éponges	LCO1490-Ven	ATTATTCAGAACCAATCATAAAGATATTGG	Kappner et Bieler, 2006
	HCO900-Ven	TGTAGGAATAGCAATAATAAAAGTTAC	
Poissons			
COI	dgLCO-1490	GGTCAACAAATCATAAAGAYATYGG	Meyer, 2003
	dgHCO-2198	TAAACTTCAGGGTGACCAARAAYCA	
COI	VF2_T1	TGTAAAAACGACGGCCAGTCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC	Ward <i>et al.</i> , 2005
	FR1d_T1	CAGGAAACAGCTATGACACCTCAGGGTGTCCGAARAAYCARAA	Ivanova <i>et al.</i> , 2007
	FISHF2_T1	TGTAAAAACGACGGCCAGTCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC	Ward <i>et al.</i> , 2005
	FISHR2_T1	CAGGAAACAGCTATGACACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA	

### 1.3 RESULTATS

Au total 80 morpho-espèces réparties en 12 phylums et sous-phylums ont pu être récoltées des 6 collecteurs immergés au site The Wolves en 2010. Dû à des problèmes liés à la préservation des tissus, une de ces espèces a été ignorée. De ces 80 espèces analysées, 72 ont pu être identifiées au rang d'espèce selon leur morphologie, les 8 autres ayant été attribué à un nom fictif (ex : amphipode sp.4). La moitié des espèces recensées (52%) appartenait à deux principaux groupes, soit les crustacés et les mollusques. C'est aussi parmi ces deux groupes d'invertébrés qu'a été dénombré le plus grand nombre d'espèces (mais non la plus grande proportion ; 17% et 26% respectivement du nombre total d'espèces) n'ayant aucune séquence génétique dans les bases de données. Le groupe des annélides est de loin celui où la plus grande proportion (43% de toutes les espèces recensées) d'espèces n'a pu être associée à une séquence ADN dans l'une des deux bases de données utilisées.

#### 1.3.1 Amplification de l'ADN

Au total, l'ADN de 72 espèces (91% de toutes les espèces récoltées) a pu être amplifié au moins une fois avec succès. L'amplification de l'ADN de toutes les espèces a pu être réalisée chez la majorité des groupes à l'exception des crustacés, des mollusques et des annélides. Les quatre espèces de crustacés pour lesquelles l'amplification a échoué sont des amphipodes de très petite taille dont les quantités d'ADN ont pu être insuffisantes. L'ADN d'une seule espèce de mollusque n'a pu être amplifié (*Margarites helicius*) tout comme dans le cas des annélides *Spirorbis* spp.

Le gène nucléaire 18S a permis d'amplifier l'ADN d'un plus grand nombre d'espèces de crustacés, de tuniciers et de cnidaires tandis que le gène CO1 a mieux fonctionné chez les bryozoaires, les poissons et les annélides. Pour tous les autres groupes, le succès d'amplification des deux gènes est très similaire.

Tableau 2. Tableau récapitulatif des succès d'amplification des fragments de gène CO1 et 18S pour chaque groupe d'invertébrés

	Identifications spécifiques			Espèces séquencées		
	Espèces récoltées	Nb morpho-espèces	Nb espèces génétique (≥ 98% similarité)	18S et/ou COI	18S	COI
Tous les groupes	81	73	50	63	54	40
Crustacés	20	19	13	15	13	9
Mollusques	23	21	12	17	15	9
Echinodermes	5	5	4	5	5	4
Bryozoaires	8	8	2	6	3	2
Tuniciers	7	7	7	7	7	4
Cnidaires	4	2	3	3	3	2
Némertes	1	1	1	1	1	1
Poissons	3	3	2	3	1	3
Platyhelminthes	1	1	1	1	1	0
Chélicérates	1	1	1	1	1	1
Annélides	6	5	3	4	3	4
Éponges	2	0	1	1	1	1

### 1.3.2 Séquences génétiques

Une séquence génétique a été obtenue pour 80% de l'ensemble des espèces récoltées tandis que 90% des individus ont pu être identifiés au niveau de l'espèce à l'aide de clés d'identification morphologique (Tableau 2). Une séquence génétique a été obtenue chez 15 espèces de crustacés sur 19, 17 espèces de mollusques sur 23, 6 espèces de bryozoaires sur 8, 4 espèces d'annélides sur 6, 3 espèces de cnidaires sur 4 et 1 espèce d'éponge sur 2 récoltées. Dans le cas des autres groupes, 100% des espèces récoltées ont été séquencées (échinodermes (5/5), tuniciers (7/7), némerthes (1/1), poissons (3/3), plathelminthes (1/1), chélicérates (1/1) (Tableau 2). Une séquence du gène 18S a été obtenue chez 54 espèces au total dont 43 avaient plus de 98 % de similarité avec une séquence de GenBank. Une séquence du gène CO1 a été obtenue chez seulement 40 espèces dont 27 avaient plus de 98% de similarité avec une séquence de Genbank ou BOLD. Ces différences sont dues soit à l'absence de

séquences de ces espèces dans les bases de données et/ou une non concordance entre les identifications morphologiques/génétiques.

### 1.3.3 Concordance entre les identifications morphologiques et génétiques

De toutes les espèces récoltées et identifiées par les critères morphologiques, 62% ont pu être séquencées avec succès et possèdent au moins une séquence ADN présente dans l'une ou l'autre des bases de données utilisées (GenBank ou BOLD). Afin de comparer le pourcentage de concordance entre les deux méthodes d'identification (morphologiques et génétiques), seules ces espèces ont été considérées. Pour certains groupes tels les némerthes, plathelminthes et chélicérates, le succès de concordance entre les deux méthodes d'identification doit être considéré avec parcimonie puisqu'un seul représentant a été séquencé pour chacun de ces groupes.

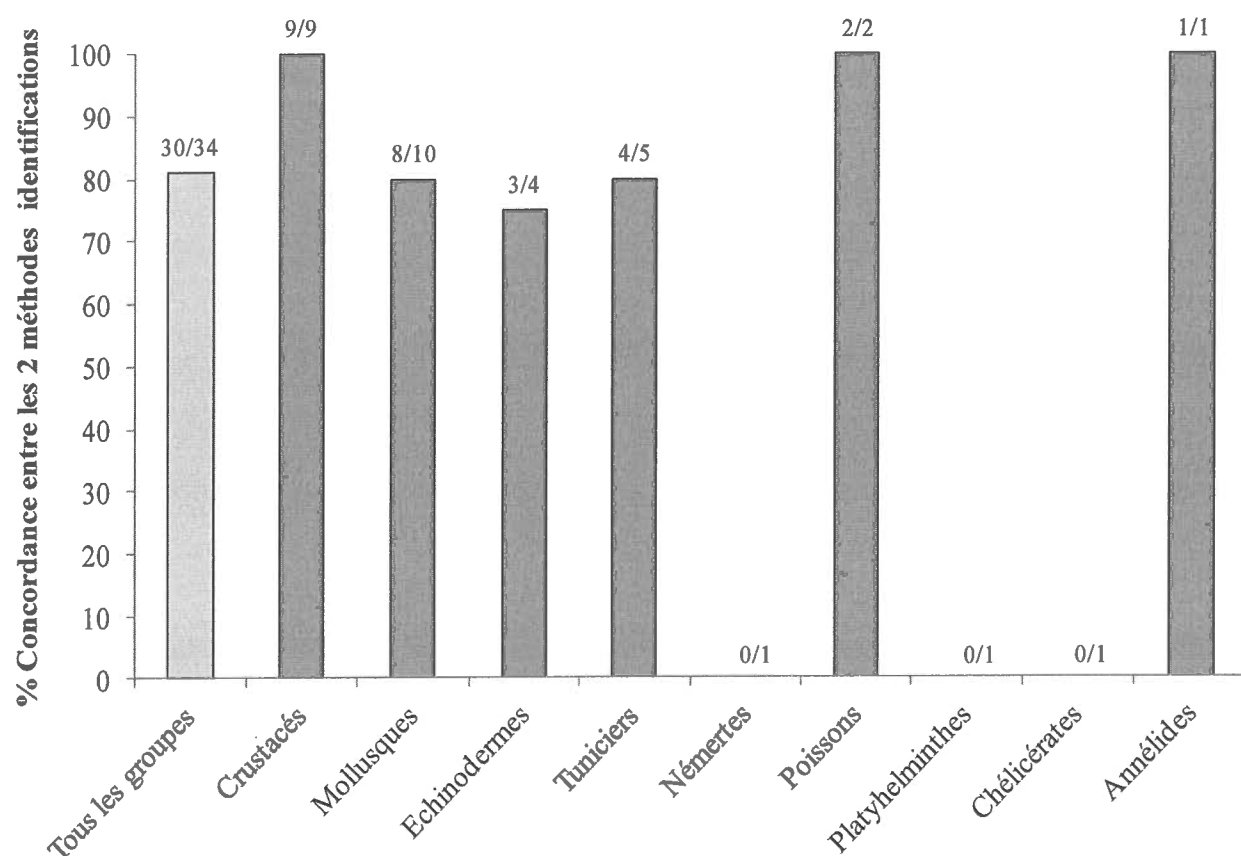


Figure 2. Concordance (%) des identifications morphologiques et génétiques. Le nombre d'espèces pour lesquelles il y a eu concordance entre les identifications sur le nombre d'espèces comparées est inscrit au-dessus de chaque phylum

La concordance des identifications morphologiques et génétiques (CO1 et 18S) au rang d'espèce pour l'ensemble des espèces séquencées et ayant une séquence connue (GenBank ou BOLD) se situe à 81 % (Figure 2). Il est à noter qu'un succès de concordance supérieur ou égal à 75 % a été obtenu pour 6 phylums et sous phylums des 10 analysés et 3 d'entre eux ont obtenus 100% de concordance, soit les crustacés, les annélides et les poissons (Figure 2).

La concordance entre les identifications morphologiques et génétiques a été < 75% pour trois groupes, et ces succès plus mitigés sont dû à différentes causes, certaines liées aux analyses moléculaires et d'autres aux identifications morphologiques. D'autre part, un seul représentant par groupe a pu être analysé dans ces phylums. Le « mismatch » de 20 % chez les tuniciers est dû à un désaccord entre les méthodes pour une espèce sur cinq et est possiblement attribuable au manque de caractères morphologiques chez les jeunes spécimens très difficiles à distinguer et à reconnaître dans les clés d'identifications morphologiques. Il est aussi à noter que pour 2 espèces de tuniciers, la concordance entre les identifications à l'espèce est nulle, mais elle est de 100% au niveau du genre. Par ailleurs, chez les némerthes et les platyhelminthes, la concordance entre les identifications moléculaires et morphologiques basée sur un très petit nombre (1) d'espèces est de 0% (Figure 2). Dans le cas des deux espèces appartenant à ces phylums, des scores de similarité de 99% nous permettent de confirmer que les identifications de ces espèces basées sur leur séquence ADN est différente de celles réalisées par l'observation des critères morphologiques. Le groupe des bryozoaires a été ignoré dû la mauvaise qualité des séquences ADN obtenues suite au séquençage, ce qui témoigne des faibles pourcentages de similarité observés (sous les 92%), rendant l'identification de ces espèces impossible (0/3).

Le seul individu appartenant aux Némerthes a pu être identifié à partir de sa séquence ADN comme appartenant à une autre espèce que celle décrite selon les critères morphologiques, expliquant l'absence totale de concordance entre les deux méthodes d'identification (Figure 2). Selon les critères morphologiques, ce spécimen avait été associé à un *Carcinonemertes carcinophila*. Toutefois, la comparaison des séquences mitochondriale et nucléaire dans GenBank avec l'espèce *C. carcinophila* démontre des scores de similarité de 84% et 87% respectivement, ces scores de similarité étant trop faibles pour être associés à nos séquences requêtes. Aucune séquence appartenant à cette espèce n'a été

retrouvée dans la base de données du Barcode of Life, mais un BLAST des fragments de gène nucléaire (18S) et mitochondrial (CO1) de cet individu réalisé dans GenBank a confirmé son identité comme étant plutôt un *Nipponemertes pulcher* à 99% de similarité et ce, pour les deux gènes comparés (Tableau 3). Cette espèce fréquente en effet la Baie de Fundy (EOL ; <http://eol.org>). Dans le cas du platyhelminthe *Pleiolana atomata*, un BLAST de la séquence du gène 18S dans Genbank démontre une similarité de 99% avec celle de l'espèce *Notoplana australis*, toutefois, la répartition géographique de cette espèce est limitée aux côtes de la Nouvelle-Zélande (EOL ; <http://eol.org>). L'absence de séquence du gène 18S pour l'espèce *P. atomata* dans Genbank ne permet malheureusement pas de conclure sur l'identification de cet individu. Une comparaison des séquences du gène CO1 serait requise afin de confirmer son identité.



### 1.3.4 Découverte de nouvelles séquences ADN

L'identification de 27 espèces, tous phylums confondus, n'a pu être établie à l'aide du codebarre génétique puisqu'elles étaient absentes des bases de données utilisées pour l'un ou l'autre des deux gènes amplifiés. Ces espèces pourraient maintenant être ajoutées à la base de données GenBank (Figure 3). La majorité des nouvelles séquences génétiques ont été obtenues suite à l'amplification du gène 18S (Figure 3). Une liste exhaustive de ces espèces et le gène séquencé est présentée un peu plus loin (Tableau 3).

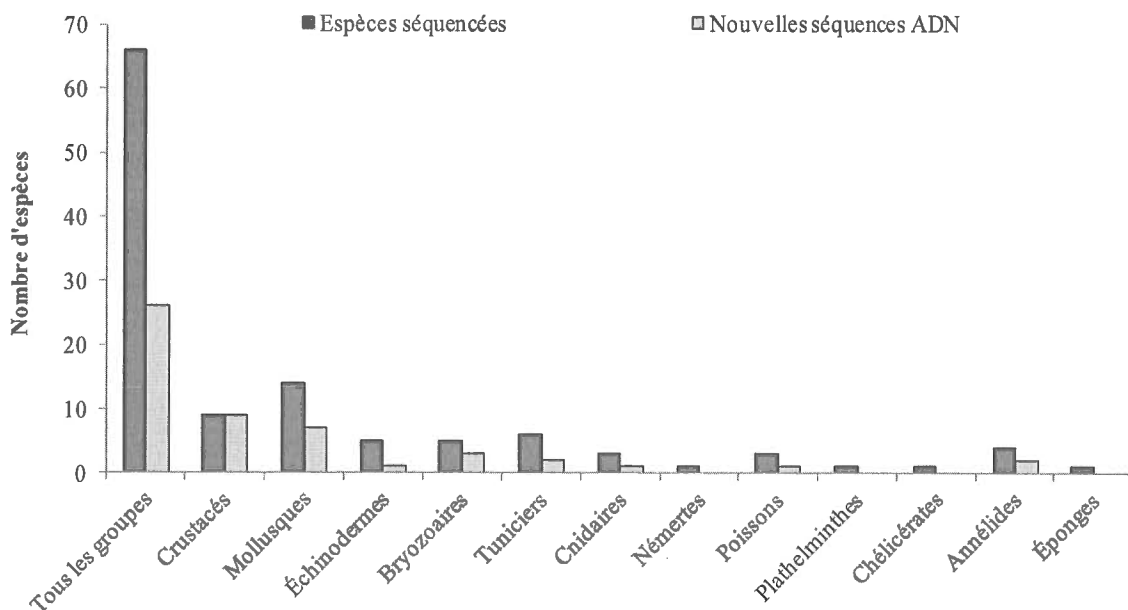


Figure 3. Nombre d'espèces séquencées (gris foncé) ainsi que le nombre de nouvelles séquences (espèce) absente de GenBank et BOLD (gris pâle) pour chaque phylum

Tableau 3. Liste des nouvelles séquences absentes de BOLD et/ou GenBank selon le gène amplifié

	<i>Morpho-espèces</i>	CO1	18S
Phylums			
Crustacés	<i>Hyas araneus</i>		X
	<i>Pagurus arcuatus</i>		X
	<i>Crassikorophium bonellii</i>		X
	<i>Eualus pusiulus</i>		X
	amphipode sp. 1 : <i>Pleusymtes glaber</i>		X
	<i>Hyas coarctatus</i>		X
	<i>Eualus fabricii</i>		X
	<i>Monocorophium ascherusicum</i>		X
	<i>Deflexiloides</i>		X
Mollusques	<i>Frigidoalvania pelagica</i>	X	X
	<i>Musculus niger</i>		X
	<i>Buccinum undatum</i>		X
	<i>Velutina velutina</i>	X	
	<i>Anomia simplex</i>		X
	(nom accepté : <i>Anomia acontes</i> )		
	<i>Parvicardium pinnulatum</i>	X	X
	<i>Boreotrophon truncatus</i>		X
Échinodermes	<i>Ophiura robusta</i>	X	X
Bryozoaires	<i>Schizoporella biaperta</i>		X
	(espèce synonyme : <i>Buffonellaria biaperta</i> )		
	<i>Dendrobeania murrayana</i>		X
	Bryo gelato (espèce inconnue)		X
Tuniciers	<i>Dendrodoa carnea</i>		X
	<i>Boltenia echinata</i>		X
Cnidaires	<i>Lucernaria</i> sp.2		X
Poissons	<i>Cyclopterus lumpus</i>		X
Platyhelminthes	<i>Pleioplana atomata</i>		X
Annélides	<i>Eunoe oerstedii</i>		X
	<i>Harmothoe extenuata</i>	X	X

## 1.4 DISCUSSION

La présente étude a permis de bien répondre à un des objectifs établis au départ en réalisant une liste des séquences ADN associées aux espèces d'invertébrés prélevées. Bien que notre étude ait produit l'un des premiers répertoires de codebarres génétiques d'espèces d'invertébrés de la Baie de Fundy, beaucoup de travail demeure afin de la compléter. Il a aussi été possible de confirmer l'utilisation du codebarre génétique comme un excellent outil complémentaire à la taxonomie traditionnelle. En utilisant conjointement la morphologie et les outils moléculaires, un succès d'identification de près de 99 % a été obtenu pour l'identification de tous les individus récoltés lors de la présente étude, la grande majorité était des individus matures. C'est une excellente résolution si l'on compare aux résultats obtenus de 35 % pour l'identification de larves d'invertébrés planctoniques de l'arctique en combinant ces deux méthodes d'identification (Heimeier *et al.*, 2010). Un deuxième objectif a été atteint par la validation de la taxonomie résultat de la comparaison des identifications basées sur la morphologie des individus et leur séquence ADN associée. Toutefois, l'utilisation exclusive du gène mitochondrial comme outil d'identification des invertébrés marins peut être problématique pour quelques groupes comme les mollusques et les bryozoaires. Il est alors nécessaire d'utiliser d'autres marqueurs moléculaires en parallèle, tels les gènes nucléaires (18S par exemple) et/ou dessiner de nouvelles amorces pour le CO1 plus spécifiques pour ces groupes.

### 1.4.1 Concordance entre les identifications morphologiques et génétiques

La concordance entre les identifications morphologiques et génétiques était de 81% pour l'ensemble groupes taxonomiques étudiés. Au total 62 % des espèces identifiées morphologiquement n'ont pu être identifiées génétiquement, soit en raison d'un échec d'amplification (18 %) ou de l'absence de leur séquence génétique dans l'une des deux bases de données utilisées (20 %). Pour plusieurs espèces, seul le gène 18S a pu être séquencé. Puisque seules les séquences du gène CO1 sont contenues dans BOLD, aucune identification de ces espèces n'a pu être validée dans cette base de données. Tel est le cas par exemple de deux espèces de crabes du genre *Hyas* ayant pu être séquencées uniquement

avec le gène 18S et aucune séquence de ces espèces n'a été répertoriée dans GENBANK. De plus, l'ADN nucléaire évolue moins rapidement que l'ADN<sub>mt</sub> chez l'ensemble des métazoaires, c'est pourquoi il s'avère parfois impossible d'identifier correctement une espèce dû à une très grande similarité entre les séquences inter espèces au sein d'un même genre (Hillis et Dixon, 1991; cité par Machida et Knowlton, 2012). Une concordance de 100% a été obtenue pour les identifications d'espèces de crustacées, de poissons et d'annélides comparées, ce qui est comparable aux résultats obtenus (95%) dans une étude portant sur les crustacés de l'Estuaire et du Golfe Saint-Laurent (Radulovici *et al.*, 2009). Une étude comparative des identifications de larves de poissons basées à la fois sur la morphologie et leur séquence du gène CO1 a obtenu un succès de 44% en moyenne comparativement aux résultats de la présente étude où 67% des espèces de poissons adultes ont pu être identifiés à l'aide des deux méthodes (Ko *et al.*, 2013).

Toutes les espèces de tuniciers recensées ont pu être séquencées avec succès (100%), mais seulement 5 espèces sur 7 étaient présentes dans les bases de données. Des 5 espèces de tuniciers comparées, seule *Halocynthia pyriformis* n'a pas été identifiée correctement, ayant plutôt été reconnue comme appartenant à *H. roretzi* sur la base des critères génétiques à partir du fragment de gène nucléaire 18S (Wada, 1998). Un alignement dans MEGA version 5.1 des séquences du gène 18S des 4 individus récoltés avec les séquences des deux espèces prélevées dans GENBANK (*H. pyriformis* et *H. roretzi*) a permis de confirmer leur identité comme *H. roretzi*. Dernièrement, aucune concordance n'a pu être établie chez les quatre espèces de cnidaires récoltées dû aux identifications morphologiques, une seule des quatre morpho-espèces récoltées a été identifiée à l'espèce. Les trois autres espèces ont toutefois pu être identifiées par le codebarre génétique. Dans une étude comparant les identifications d'espèces de la sous-classe des Octocorallia par exemple, 70 % des morpho-espèces ont été discriminé à l'aide du gène CO1 (McFadden *et al.*, 2011). Les deux espèces d'éponges n'ayant été identifiées au rang d'espèce n'ont pas pu être comparées selon les deux méthodes d'identification, mais une d'entre elle a pu être identifiée comme *Haliclona oculata* à partir des fragments de gène CO1 et 18S. D'autre part, aucune espèce de bryzoaire n'a été identifiée avec succès avec la technique du codebarre. L'extraction de

l'ADN des bryozoaires ayant été réalisée à partir d'un bout de tissu contenant plusieurs zoïdes, il est probable que lors de la réaction en chaîne par polymérase, l'ADN d'un épiphyte ait été amplifié. Ce problème a été abordé dans une étude réalisée en 2001, au cours de laquelle deux méthodes d'extraction et d'amplification ont été comparées (Porter *et al.*, 2001). Ces auteurs ont pu démontrer que la combinaison d'une extraction d'ADN<sub>mt</sub> à partir de tissus riches en oocytes et l'utilisation d'amorces spécifiques permet d'obtenir des produits PCR de simple bande de la taille attendue. Il est donc tout à fait possible que les méthodes d'extraction ou d'amplification du fragment d'ADN (utilisation d'amorces universelles non spécifiques) utilisée dans la présente étude ne soient pas adéquates pour les espèces appartenant à ce phylum.

#### **1.4.2 Problèmes liés à la qualité de l'ADN, à l'amplification ou au séquençage de l'ADN**

L'ADN<sub>mt</sub> et nucléaire des espèces recensées a pu être séquencé avec succès pour les décapodes tandis que les difficultés sont apparues principalement chez les espèces de plus petites tailles appartenant à l'ordre des amphipodes. Il est possible que la méthode d'extraction de l'ADN sur colonne soit à l'origine des faibles concentrations d'ADN observées suite à l'extraction. L'utilisation des colonnes d'extraction permet de recueillir un ADN pur qui se conservera plus longtemps, mais cette méthode donne généralement un rendement moindre que les extractions simples qui utilisent seulement la protéinase K et un tampon avec EDTA. Pour plusieurs espèces d'amphipodes, trop peu d'individus ont été prélevés pour permettre de refaire une extraction sur de nouveaux spécimens. La majorité des espèces de mollusques (74 %) ont pu être séquencées pour CO1 et 18S. Par contre, lors des prélèvements, chaque organisme a dû être identifié *in vivo*, et il est possible que certains spécimens soient morts avant d'être déposés dans l'éthanol 95%. Certains mollusques ont pu refermer rapidement leur opercule au contact avec l'éthanol et empêcher une bonne préservation de leur ADN. Une exposition prolongée de l'activité enzymatique des endonucléases provoque généralement la dégradation de l'ADN des spécimens collectés (Walker et Sikorska, 1994) et il est par la suite impossible d'amplifier de longs fragments d'ADN ( $\approx$  650 bp et +) puisque seuls des fragments très courts sont contenus

dans l'échantillon. Tout comme pour les amphipodes de petite taille, les concentrations d'ADN suite à l'extraction de quelques espèces de mollusques et de polychètes étaient très faibles. Une perte d'ADN, combinée à la petite taille des organismes manipulés limite grandement les chances d'amplifier le fragment d'ADN ciblé avec succès. Plusieurs amorces alternatives aux amorces universelles ont du être testées afin d'amplifier avec succès le fragment de gène CO1. L'amplification de l'ADN de trois espèces de polychètes (*Polyphysia crassa*, *Circeis spirillum* et *Spirorbis* sp.1) a constamment échoué, malgré beaucoup d'efforts en laboratoire. Les concentrations d'ADN très faibles dosées suite aux extractions pourraient être à l'origine de cet échec d'amplification. Idéalement, on vise des concentrations d'ADN variant entre 50 et 100 ng/μl pour être en mesure d'obtenir de bons résultats d'amplification. Toutefois, des valeurs comprises entre 2 et 5 ng/μl ont été notées pour les deux espèces de la famille des Serpulidae et 17 ng/μl pour l'espèce restante.

Un manque de similarité entre les séquences d'amorces universelles et les séquences de la région de l'ADN ciblée peut rendre l'amplification du fragment de gène CO1 plus difficile chez certains taxons d'invertébrés marins. Les vers Serpulidae par exemple, représentent un groupe d'espèces pour lequel les amplifications sont les plus difficiles à réaliser à partir des amorces universelles, il s'avère donc nécessaire de dessiner des amorces plus spécifiques à ce groupe (Sun *et al.*, 2012). D'autre part, dans le cas des mollusques, plus précisément des gastéropodes, la méthode d'extraction utilisée peut grandement limiter le succès d'amplification. Tel que nous l'avons fait, il est recommandé de combiner une purification à un nettoyage avec un détergent cationique comme le bromure de cétyltriméthylammonium (CTAB) suite à l'extraction de l'ADN à partir d'un kit d'extraction, E.Z.N.A. ou Quiagen (Huelskens *et al.*, 2011). Suite à de multiples échecs d'amplification de l'ADN<sub>mt</sub> de quelques espèces, le choix s'est rapidement dirigé vers le fragment de gène nucléaire 18S, plus conservé et donc plus facile à amplifier. Toutefois, moins de séquences de ce gène nucléaire étaient présentes dans la base de données GenBank. Pour certaines espèces, aucune amplification du gène mitochondrial et/ou nucléaire n'a pu être réalisée avec succès, même suite à plusieurs essais. La concordance entre les identifications morphologiques et génétiques à l'espèce était de 63% (80% au

niveau du genre et/ou famille) pour l'ensemble des espèces, tous les groupes taxonomiques confondus. Il est à noter que seules 62 % des espèces identifiées morphologiquement ont aussi pu être identifiées génétiquement, soit en raison d'un échec d'amplification (18 %) ou de l'absence de leur séquence génétique dans les deux bases de données utilisées (20 %). Dans ce sens, deux espèces de crabes du genre *Hyas* ont pu être séquencées uniquement avec le gène 18S et aucune séquence de ces espèces n'a été répertoriée dans GENBANK, expliquant l'absence de concordance. Puisque seules les séquences du gène CO1 sont contenues dans le Barcode of Life, aucune identification de ces espèces n'a pu être validée dans cette base de données. L'extraction de l'ADN des bryozoaires ayant été réalisée à partir d'un bout de tissu contenant plusieurs zoïdes, il est probable que lors de la réaction en chaîne par polymérase, l'ADN d'un épiphyte ait été amplifié. Ce problème a été abordé dans une étude réalisée en 2001, au cours de laquelle deux méthodes d'extraction et d'amplification ont été comparées (Porter *et al.*, 2001). Ces auteurs ont pu démontrer que la combinaison d'une extraction d'ADN<sub>mt</sub> à partir de tissus riches en oocytes et l'utilisation d'amorces spécifiques permet d'obtenir des produits PCR de simple bande de la taille attendue. Il est donc possible que les méthodes d'extraction ou d'amplification du fragment d'ADN (utilisation d'amorces universelles non spécifiques) utilisée dans la présente étude ne soient pas adéquates pour les espèces appartenant à ce phylum.

#### **1.4.3 Les avantages et les inconvénients des deux méthodes d'identification utilisées**

##### ***Le codebarre génétique***

La plus grande contribution du codebarre génétique est de pouvoir identifier les espèces où la morphologie est parfois insuffisante puisque les clés d'identification morphologiques sont souvent applicable uniquement à certains stade de vie, souvent les adultes ou encore à un seul genre (Buhay, 2009; Krishnamurthy et Francis, 2012). Cette méthode est relativement rapide et standardisée. L'approche d'Hébert et collaborateurs permet à n'importe quel scientifique de pouvoir identifier les espèces, même s'il ne possède aucune connaissance approfondie en taxonomie, simplement en effectuant une routine simple en laboratoire (Bucklin *et al.*, 2011; Hebert *et al.*, 2003a). Ainsi, plus de campagnes

de terrain peuvent être réalisées afin d'assurer un suivi de la biodiversité malgré la diminution constante du nombre de spécialistes en taxonomie. Par contre, lorsque l'on veut identifier une nouvelle espèce par codebarre génétique, il est essentiel d'échantillonner le maximum d'individus possible puisqu'une trop petite unité d'échantillonnage risque de ne pas être représentative de l'espèce en entier, spécialement pour les taxons ayant une large distribution géographique (Walsh, 2000). Idéalement, un minimum de 3 individus distincts serait requis afin d'assigner un codebarre génétique à une espèce dans la base de données (Buhay, 2009). Ce même auteur souligne que la majorité des espèces présentes dans GENBANK ne sont représentées que par un seul individu, donc une seule séquence ADN. Ce problème est d'autant plus grave si l'identification morphologique de ce spécimen est erronée. Plusieurs séquences présentes dans la base de données GENBANK démontrent certaines erreurs, rendant parfois impossible une identification précise de la séquence cible (Harris, 2003). Le BOLD est une base de données libre d'accès, très standardisée dans les exigences de soumissions des séquences et pouvant être corrigée par les taxonomistes à n'importe quel moment, ce qui représente un outil plus avantageux que GenBank (Harris, 2003; cité par Radulovici *et al.*, 2010). Ainsi, le codebarre génétique ne représente pas une méthode d'identification parfaite, elle possède aussi certaines limites comme la possibilité d'amplifier un organisme contaminant l'échantillon avec les amorces universelles ou la présence éventuelle de pseudogènes [Nuclear Mitochondrial pseudogenes (NUMTs)] (Buhay, 2009; Porter *et al.*, 2001). Les NUMTs sont des copies non fonctionnelles de l'ADN<sub>mt</sub> incorporées dans le génome nucléaire (Bensasson *et al.*, 2001). En utilisant les amorces universelles proposées par Folmer (1994), les NUMTs peuvent facilement être coamplifiés avec l'ADN<sub>mt</sub> orthologue (Song *et al.*, 2008). Il peut s'en résulter une surestimation du nombre d'espèces, mais aussi entraîner une identification incorrecte, ce qui devient très problématique pour l'utilisation du codebarre génétique (Moulton *et al.*, 2010; Song *et al.*, 2008). Une plus grande présence de NUMTs a été rapportée chez les arthropodes, principalement chez les insectes (Bensasson *et al.*, 2001; Hazkani-Covo *et al.*, 2010). De plus, l'initiative du CodeBarre de la vie (IBOL) requiert l'utilisation unique du gène mitochondrial (CO1), diminuant le nombre d'espèces pouvant être séquencées,



puisque le fragment de gène mitochondrial s'avère parfois très difficile à amplifier chez certaines espèces. L'utilisation unique du codebarre génétique ne permet pas à ce jour d'effectuer un suivi complet (assigner un nom d'espèce à chaque individu) de la biodiversité marine d'une région donnée puisque plusieurs espèces n'ont pas encore de codebarres génétiques. Il est toutefois possible d'utiliser les données génétiques pour répertorier la biodiversité en termes de nombre d'espèces présentes même si on ne connaît pas leur identité morphologique. Dans ce cas, l'utilisation de « molecular operational taxonomic units » (MOTUs) permet de calculer la richesse spécifique de chaque échantillon en déterminant le nombre de séquences en-deçà d'un certain seuil de similarité préalablement déterminé par l'auteur sans avoir recours aux identifications morphologiques (Laforest *et al.*, 2013; Powers *et al.*, 2011).

### ***La taxonomie traditionnelle***

La présente étude ne permet pas de démontrer de façon définitive si la morphologie offre de meilleurs résultats que le codebarre génétique puisque seules les espèces identifiables morphologiquement ont été retenues. Il serait important de vérifier dans quelle mesure cela peut biaiser les mesures de biodiversité. Dans le cadre du présent exercice, un plus grand nombre d'espèces ont pu être identifiées à l'aide de la taxonomie traditionnelle (n=72) comparativement aux identifications génétiques (n=50). Les 50 espèces identifiées à l'aide du codebarre génétique correspondent aux espèces séquencées ayant aussi un codebarre génétique associé. Ces dernières ont été limitées par des problèmes d'amplifications et/ou de séquençage. Il serait possible de mettre au point des amorces plus spécifiques pour les groupes plus difficiles. Que ce soit lors d'un recensement de la diversité des macroalgues à Churchill au Manitoba ou encore celui d'insectes présents dans 3 cours d'eau des montagnes rocheuses du Colorado, le codebarre génétique a permis d'identifier davantage d'espèces potentielles, soit des groupes génétiques que les identifications basées sur la morphologie des espèces uniquement (Gill *et al.*, 2014; Saunders et McDevit, 2013). La taxonomie requiert aussi beaucoup plus de connaissances sur l'emploi des clés d'identification et sur les caractères morphologiques propres à chaque espèce, mais elle demeure plus rapide lorsque l'identificateur sait reconnaître la majorité

des espèces. Beaucoup d'individus appartenant à la même espèce peuvent être identifiés rapidement alors qu'avec le codebarre génétique, l'ADN de chaque individu doit être extrait, amplifié puis séquencé. Diverses limites de la taxonomie morphologique ont toutefois été soulevées par Hebert et ses collaborateurs (Hebert *et al.*, 2003a ; Pires et Marinoni, 2010). Ils mentionnent entre autre que la plasticité phénotypique de certains caractères permettant l'identification des espèces peut parfois mener à une identification erronée. Parallèlement, la taxonomie morphologique ne permet pas la distinction des espèces cryptiques. De plus, selon la rigueur et l'expérience de l'identificateur, il y a davantage place à l'interprétation lors de l'identification, principalement dans le cas des individus immatures. Toujours selon ces auteurs, l'identification d'espèces appartenant à certains groupes taxonomiques comme les polychètes par exemple, ne peut être réalisée que par des taxonomistes spécialisés dans ces taxons.

L'utilisation d'une seule méthode d'identification ne doit pas être une fin en soi, elles doivent plutôt être combinées afin d'obtenir davantage de rigueur quant aux identifications effectuées (DeSalle *et al.*, 2005). Ces deux techniques d'identification possèdent des avantages et des inconvénients. Ainsi, il serait idéal d'unir ces deux techniques d'identification afin d'optimiser le nombre d'espèces recensées. De la sorte, seules les espèces possédant des caractères morphologiques plastiques, les individus associés à de jeunes stades larvaires et ceux trop endommagés pour permettre l'identification à partir de leurs caractères morphologiques pourraient être identifiés à l'aide du codebarre génétique. La morphologie demeure souvent le moyen le plus rapide et le moins coûteux, à condition d'avoir recourt à un taxonomiste d'expérience. Dans le cas présent, elle a permis d'estimer l'abondance de chaque espèce et l'identification d'un plus grand nombre d'espèces que le codebarre ADN classique, mais elle requiert l'acquisition de connaissances plus spécialisées sur la morphologie des espèces étudiées. Les deux études comparatives citées ci-haut démontrent que le codebarre génétique semble plus sensible aux divergences interspécifiques que la morphologie.

#### 1.4.4 Vers le codebarre environnemental

Afin d'optimiser l'utilisation des collecteurs comme outil de suivi de la biodiversité marine, il pourrait être intéressant de travailler au développement du codebarre environnemental. Cette technique permet l'identification simultanée de toutes les espèces contenues dans un collecteur tandis qu'à l'aide de la méthode de séquençage de Sanger, telle qu'utilisée dans le présent ouvrage, les espèces ont été identifiées un individu à la fois. Ce nouvel outil a d'abord été étudié chez les communautés de bactéries et de virus, ainsi que sur des espèces d'insectes de milieu lacustre (Alhamlan *et al.*, 2012; Hajibabaei *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2012). Cette technique requiert beaucoup moins de manipulations en laboratoire, mais davantage de traitement bioinformatique. Hajibabaei et ses collaborateurs en 2011 ont pu démontrer que seules les espèces communes pouvaient être identifiées, laissant dans l'inconnu la majorité des espèces plus rares. La présence de ces espèces peut s'avérer primordiale lors d'analyses statistiques visant à connaître la structure des communautés benthiques étudiées. Afin de contrer à cette lacune, un couplage de divers marqueurs moléculaires (CO1, 18S et 16S) peut être employé (Creer *et al.*, 2010). Ayant déjà acquis les séquences de plusieurs espèces de la région à l'étude, il pourrait être très utile de compléter cette base de données dans l'optique de mettre au point la méthode du séquençage environnemental (Next generation sequencing).

## 1.5 CONCLUSION

Les deux méthodes d'identification utilisées dans la présente étude sont efficaces et complémentaires. D'ailleurs les concordances d'identifications obtenues suite à une comparaison des résultats des deux méthodes ont été très satisfaisantes. D'autre part, il a été démontré dans ce présent ouvrage que le codebarre génétique peut être un complément très intéressant permettant l'identification d'espèces qui ne peuvent être identifiées sur la base de caractères morphologiques. Dans l'optique d'assurer un suivi de la biodiversité marine, le but est d'identifier le plus grand nombre d'individus présents dans les collecteurs afin d'étudier toute modification des communautés benthiques avec succès. Ainsi, en alliant ces deux méthodes, on augmente la fiabilité du suivi et tous les changements s'effectuant dans la structure des communautés peuvent alors être décelés rapidement. La majorité des individus devrait donc être identifiée à l'aide des clés d'identification et les organismes restants selon leur empreinte génétique. Il serait très intéressant de réaliser simultanément un recensement basé sur les MOTUs afin de pouvoir comparer le nombre d'espèces présentes dans les collecteurs selon la génétique avec le nombre de « morpho-espèces ».

## **CHAPITRE 2**

### **EFFET DE DEUX TYPES DE SUBSTRATS SUR LE RECRUTEMENT DES ESPECES BENTHIQUES ENDEMIQUES ET DE L'ESPECE ALLOCHTONE *CIONA INTESTINALIS***

#### **2.1 INTRODUCTION**

Il est généralement admis que la biodiversité contribue à la stabilité des écosystèmes marins en leur permettant de résister aux différentes perturbations auxquelles ils doivent faire face (Valdivia, 2008). La biodiversité remplit différentes fonctions au sein des écosystèmes en participant entre autre au recyclage des nutriments et à l'élimination des déchets, et elle assure différents bénéfices écologiques et économiques dont profitent grandement les populations humaines (Kaiser *et al.*, 2005). La perte ou la destruction des habitats côtiers, la surexploitation des ressources et la construction de structures qui contribuent à la prolifération d'espèces allochtones sont autant de menaces contribuant aux pertes de biodiversité marine (Airolidi *et al.*, 2008; Archambault *et al.*, 2010; Clynick *et al.*, 2009; Gray, 1997; O'Hara *et al.*, 2010). Les environnements côtiers, en particulier, sont de plus en plus affectés par les activités humaines qui entraînent des pertes de biodiversité marine considérables (Clynick *et al.*, 2009). Les habitats de substrat rocheux sont parmi les systèmes les plus diversifiés et les plus productifs des zones tempérées, mais ils peuvent aussi être très rapidement dégradés par les activités humaines (Airolidi *et al.*, 2009).

L'urbanisation des côtes rocheuses entraîne obligatoirement un changement au niveau des infrastructures bordant la côte. Les installations humaines, telles les quais, les marinas tout comme les murs de protection de la côte représentent de nouveaux espaces à coloniser pour les espèces marines et peuvent être considérés comme des substrats artificiels (Airolidi *et al.*, 2009). De plus, ces structures anthropogéniques offrent un refuge souvent exempt de prédateurs pour les espèces exotiques, contribuant ainsi à

l'établissement de ces communautés généralement indésirables (Bax *et al.*, 2003). Parallèlement, les communautés natives doivent entrer en compétition avec ces espèces nouvellement arrivées, soit pour les nutriments, dans le cas des organismes filtreurs par exemple, soit pour l'espace disponible (Davis, 2009). Les espèces sessiles de substrats durs sont particulièrement vulnérables à la perte d'espace puisqu'elles demeurent confinées à un seul et même endroit dès leur métamorphose.

### **2.1.1 Comportement larvaire pré-métamorphose**

Pour les animaux sessiles, le choix du site de colonisation est une action capitale puisqu'ils passeront leur vie post-métamorphose fixé à cet endroit. Chaque larve tente donc de repérer un site de colonisation assurant sa survie. Le choix du site de colonisation est influencé par les apports nutritifs du milieu, les conditions physico-chimiques, ainsi que le potentiel de rencontres avec les proies ainsi que les prédateurs (Jenkins *et al.*, 2009). Ainsi, les larves planctoniques adoptent différents comportements lors de la colonisation afin de repérer un habitat pouvant assurer leur survie, leur croissance et éventuellement leur reproduction (Jenkins *et al.*, 2009). La larve de plusieurs espèces peut retarder, dans une certaine mesure, sa métamorphose en juvénile jusqu'au moment où elle aura repéré un substrat qui lui assurera un bon « fitness » (Hadfield et Paul, 2001; Walters, 1992). Plusieurs inducteurs de la métamorphose chez les invertébrés marins de substrat rocheux ont été répertoriés, inducteurs qui sont liés à la nature physico-chimique du substrat, la composition du biofilm qui recouvre le substrat ainsi que la présence d'individus de la même espèce, de proies ou de prédateurs (Hadfield et Paul, 2001; Pawlik, 1992; Rodriguez *et al.*, 1993; Sebens, 1985; Zardus *et al.*, 2008).

### **2.1.2 *Ciona intestinalis*, une espèce envahissante**

*Ciona intestinalis* est une espèce de tunicier introduite de l'Europe du Nord et les premières observations de l'espèce en dehors de son aire d'origine ont d'abord été réalisées sur la côte Ouest de l'Amérique du Nord autour des années 1910 (Zhan *et al.*, 2010). Selon ces auteurs, on retrouve cette espèce aujourd'hui dans pratiquement toutes les mers du

monde, incluant les côtes Est et Ouest de l'Amérique du Nord. Les espèces de tuniciers exotiques peuvent rapidement modifier la structures des habitats côtiers en formant des peuplements très denses (Rius *et al.*, 2010). L'ascidie solitaire *C. intestinalis* est une espèce hautement compétitrice puisqu'elle est très tolérante aux fluctuations de la salinité et de la turbidité, elle a une croissance rapide, atteint sa maturité rapidement et démontre souvent une très forte fécondité (Blum *et al.*, 2007; Carver *et al.*, 2003, 2006; Zhan *et al.*, 2010). Les ascidies comme *Ciona* colonisent majoritairement les structures verticales où les macro prédateurs (crabes, oursins verts, etc.) sont absents et ne peuvent limiter leur prolifération (Dumont *et al.*, 2011). Plusieurs études traitant des effets de la biodiversité sur le succès d'invasion de *Ciona* ou autres tuniciers envahissants ont été réalisées à l'aide de panneaux de PVC, de céramique ou de verre et ont démontré une relation négative entre la richesse spécifique des espèces natives et le succès d'invasion d'espèces non-natives (Clark et Johnston, 2011; Nydam et Stachowicz, 2007; Stachowicz *et al.*, 1999, 2002; Valdivia, 2008). Ces panneaux ne représentent pas un substrat naturel, la surface étant trop homogène et lisse (Davis, 2009). Par contre, ils sont très utiles pour effectuer des études comparatives puisque l'effet de la nature du substrat peut être éliminé (Davis, 2009).

### 2.1.3 Hypothèse d'Elton (1958)

L'hypothèse de base quant au succès d'invasion est l'une des plus anciennes généralisations émises sur la résistance des communautés face aux invasions. Elle soutient que les communautés les plus diversifiées devraient être plus résistantes face à l'invasion (Benedetti-Cecchi, 2006; Kennedy *et al.*, 2002; Stachowicz *et al.*, 1999, 2002). Par exemple, la diversité spécifique d'une communauté peut diminuer le recrutement ainsi que la fixation des larves de l'espèce exotique envahissante. C'est pourquoi, selon cette hypothèse, un milieu très diversifié devrait être plus stable puisque la variabilité des espèces natives composant cette communauté permet de mieux résister aux perturbations ou aux pressions de changement induites sur leur écosystème tel l'arrivée d'une espèce envahissante.

#### 2.1.4 Principaux objectifs

Un programme a récemment été développé visant à effectuer un suivi de la biodiversité marine de quatre régions du sud-ouest de la Baie de Fundy, certaines ayant été identifiées par Pêches et Océans Canada comme étant des Zones d'Importance Écologique et Biologique (ZIEB) (MPO, 2011). Par ce programme, nous avons testé l'utilisation de « collecteurs » (91 x 61 cm avec des mailles de 37 mm) pour évaluer la biodiversité des invertébrés marins colonisant les substrats rocheux dans la zone subtidale peu profonde (entre 12,5 et 16,7 m).

Dans la présente étude, un premier objectif sera de valider l'utilisation des galets de carrière comme substrat dans ces collecteurs :

Comparer le recrutement des espèces endémiques et de l'espèce envahissante *Ciona intestinalis* sur des galets naturellement colonisés dans la zone intertidale et sur des galets dénudés d'organismes provenant d'une carrière.

Un deuxième objectif sera de vérifier la théorie d'Elton (1958) sur la résistance à l'invasion, en vérifiant si le recrutement de l'espèce allochtone *Ciona intestinalis* est limité par la biodiversité du milieu :

Comparer les données d'abondances de *C. intestinalis* recensées en 2009, 2010 et 2011 au site de Beaver Harbour avec les données de diversité observées dans ces mêmes collecteurs.



## 2.2 METHODOLOGIE

### 2.2.1 Les particularités de la Baie de Fundy

La Baie de Fundy représente une région très riche et productive comprenant des écosystèmes très diversifiés et importants pour la pêche et le tourisme (Archambault *et al.*, 2010). Dû à sa forme en entonnoir et à sa profonde bathymétrie, la Baie de Fundy offre les plus grandes amplitudes de marée au monde, pouvant parfois avoisiner les 17 mètres (56 pi) de marnage dans la partie nord de Minas Basin (Trujillo et Thurman, 2008). La grande diversité et productivité de cette région sont principalement attribuables à la force de l'hydrodynamisme observable à chaque cycle de marée, participant au mélange de la colonne d'eau (Thomas, 1983). À chaque marée descendante, l'eau tend à se retirer de la Baie, alimentant en nutriments les côtes du Sud-ouest. En contrepartie, la biodiversité de cette région de la Baie de Fundy est aussi soumise à une menace de la part de l'industrie aquacole marine par les rejets sous forme de fèces ou de nourriture en excès ainsi que la présence de biocides pouvant limiter la croissance et la survie des organismes benthiques (Pohle *et al.*, 2001). Une étude portant sur les effets biologiques de trois pesticides réalisée en laboratoire a permis de démontrer les conséquences de leur utilisation, principalement sur le comportement des homards et des crevettes. Les traitements ont montrés des comportement subléthaux et les pesticides ont modifié la reproduction des homards adultes femelles (*Homarus americanus*) (Burridge, 2013). Énormément de compagnies d'aquacultures de salmonidés ont vu le jour dans cette région depuis les années 1980 (Anderson, 2007). Une étude réalisée de 1994 à 1998 dans la Baie de Fundy a permis d'attribuer à la production aquacole des pertes de biodiversité à l'échelle locale (Pohle *et al.*, 2001). Afin de préserver ces écosystèmes diversifiés, il est primordial de développer des outils permettant d'effectuer un suivi efficace de la biodiversité des organismes benthiques marins.

### 2.2.2 Région et zone d'étude

La région à l'étude est située dans le sud-ouest de la Baie de Fundy au Nouveau-Brunswick, près de l'Île de Grand Manan. Cette région se divise en quatre zones principales : Beaver Harbour, Passamaquoddy Bay, West Isles et The Wolves (Figure 4). Trois de ces zones (toutes sauf Beaver Harbour) ont récemment été désignées comme des Zones d'Importance Écologique et Biologique (ZIEB) par Pêches et Océans Canada (MPO, 2011). Mon projet fut réalisé dans la zone Beaver Harbour, à cause de l'abondance de *Ciona intestinalis* ainsi que du dénivelé intertidal plus abrupte qui a permis au bateau de relever les collecteurs remplis de galets de l'intertidal.

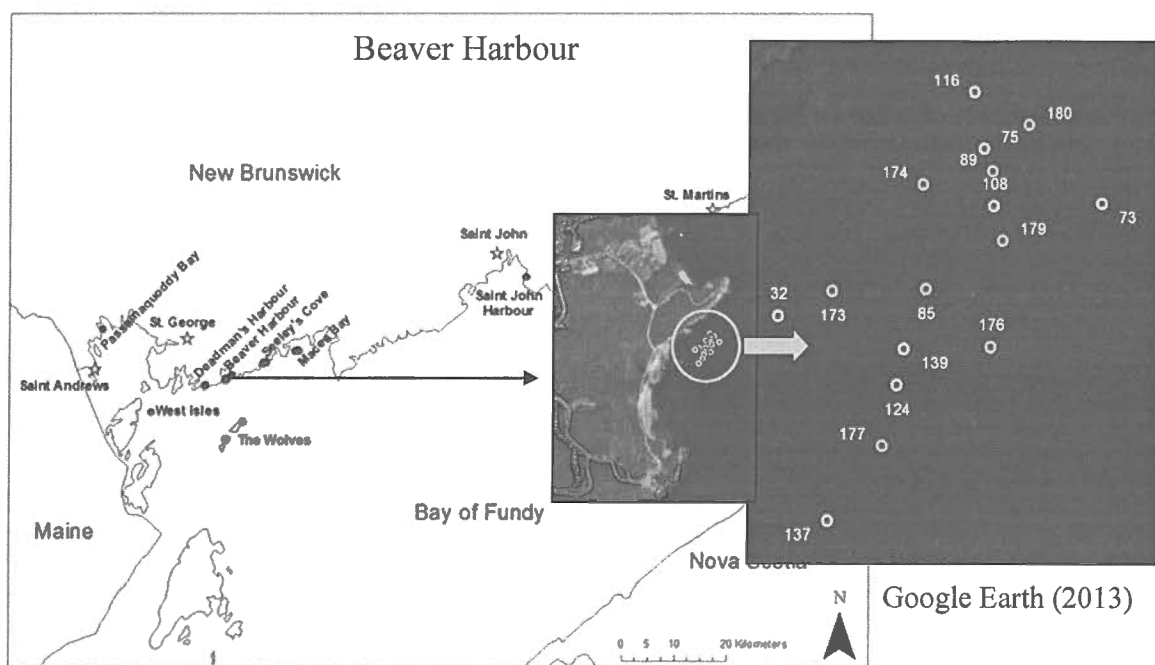


Figure 4. Localisations des collecteurs déployés à Beaver Harbour (West Lighthouse) en 2011. Les cercles verts et oranges représentent respectivement les collecteurs remplis de galets de carrière et ceux remplis de galets de la zone intertidale

Afin de valider l'utilisation de galets de carrière comme substrat dans les collecteurs, le recrutement des espèces d'invertébrés benthiques a été comparé sur des galets de carrière ainsi que sur des galets prélevés dans la zone intertidale. La répartition des collecteurs est présentée en figure 4, les cercles verts et orange représentent les collecteurs remplis de galets de carrière et de galets de la zone intertidale, respectivement. La relation entre la diversité spécifique des collecteurs et l'abondance de *C. intestinalis* a été quantifiée pour les collecteurs déployés en 2011 pour la présente étude, ainsi que pour ceux déployés dans cette même zone en 2009 et 2010 pour d'autres études.

### 2.2.3 Échantillonnage

Vingt collecteurs (91 x 61 x 15 cm) remplis de galets (diamètre  $\approx$  10 cm) ont été submergés dans la zone subtidale peu profonde (entre 12,5 -16,7 m) au site Beaver Harbour (West lighthouse) du 19 mai au 22 octobre 2011 (Figure 4). Chaque collecteur a au préalable été relié à une bouée puis divisé en 3 sections et seuls les galets de la section centrale ont été prélevés puisqu'une étude antérieure avait confirmé l'absence de différence entre l'analyse de la portion centrale uniquement comparativement à la totalité des galets contenus dans chaque collecteur (Figures 5 et 6). Dix de ces collecteurs ont été remplis de galets exempts d'organismes vivants provenant d'une carrière, qui sont normalement utilisés dans le cadre de ce programme, alors que les 10



Photo : Greg Wittig (2012)

Figure 5. Exemple d'un galet tiré aléatoirement dans la section centrale pour effectuer le décompte des organismes encroûtants.

autres ont été remplis de galets colonisés par les invertébrés de la zone intertidale inférieure. Pour ce faire, lors d'une grande marée basse (hauteur intertidale : 0,1 m), les 10

collecteurs ont été remplis directement dans la zone intertidale, juste à la limite de la zone subtidale, puis ils ont été laissés sur place jusqu'à ce que la marée ait remonté. À ce moment, les vingt collecteurs ont été remontés sur le bateau pour procéder à leur déploiement aléatoire sur le site d'étude (Figure 4). Les coordonnées (longitude et latitude) ont été notées ainsi que la profondeur de chaque collecteur déployé en mer. Les collecteurs ont été récupérés 5 mois après leur mise à l'eau et ont été conservés pendant deux jours à l'extérieur, le temps requis pour récupérer les échantillons de tous les collecteurs. Le contenu de 4 collecteurs n'a pas été examiné, du à la lourdeur du travail, et aussi puisque les différences entre traitements (substrat artificiel vs naturel) étaient déjà très évidentes suite à l'analyse des 16 premiers collecteurs.

Lors du remplissage des collecteurs avec les galets prélevés dans la zone intertidale, 16 autres galets ont été rapportés au laboratoire afin de caractériser les communautés benthiques présentes au temps 0 de l'expérience. L'abondance des espèces a ensuite été extrapolée à 31 galets afin de pouvoir comparer cet assemblage avec ceux des collecteurs.

#### **2.2.4 Traitement des collecteurs**

Pour chaque collecteur, une observation globale a premièrement été réalisée qui a permis le prélèvement de certaines informations, telles le numéro de la cage, la date, le traitement associé au collecteur, sa condition (bonne ou endommagée) ainsi que la présence de sédiments à l'intérieur de la cage (minimale, partielle ou complète). Un exemple de feuillet de terrain a été ajouté en annexe III de ce document. Afin de déterminer l'abondance des organismes encroûtants, 5 galets sélectionnés de façon semi-aléatoire (les galets étaient comptés à mesure qu'ils étaient prélevés du collecteur et ceux correspondants aux 5 nombres aléatoires tirés préalablement étaient conservés) ont été prélevés de la section centrale de chaque collecteur (Figures 5 et 6). Tous les organismes visibles sur ces galets, à l'exception des invertébrés encroûtants, ont d'abord été séparés avec précaution. De retour au laboratoire, un décompte des organismes encroûtants (bryozoaires, Spirorbidae, balanes et Anomiidae) a été réalisé. Les abondances de chacune des espèces ont ensuite été ajustées, pour chaque collecteur séparément, en fonction du nombre total de

galets contenus dans la portion centrale du collecteur. La totalité des galets restants dans la section centrale (entre 21 et 38 galets/collecteur) a été déposée dans un bassin d'eau de mer et délicatement nettoyée à l'aide de pinces à dissection pour retirer et recenser les organismes attachés. Suite au nettoyage de tous les galets de la section centrale, le plateau maillé inférieur (Figure 6) a été retiré et mis dans l'eau de mer pour conserver la macrofaune présente. À la fin de ce processus, l'eau contenue dans le bassin a été filtrée dans un tamis de maille de 500  $\mu\text{m}$ . Le contenu du tamis a été conservé dans l'éthanol anhydre pour fixer l'ADN (chapitre 1).

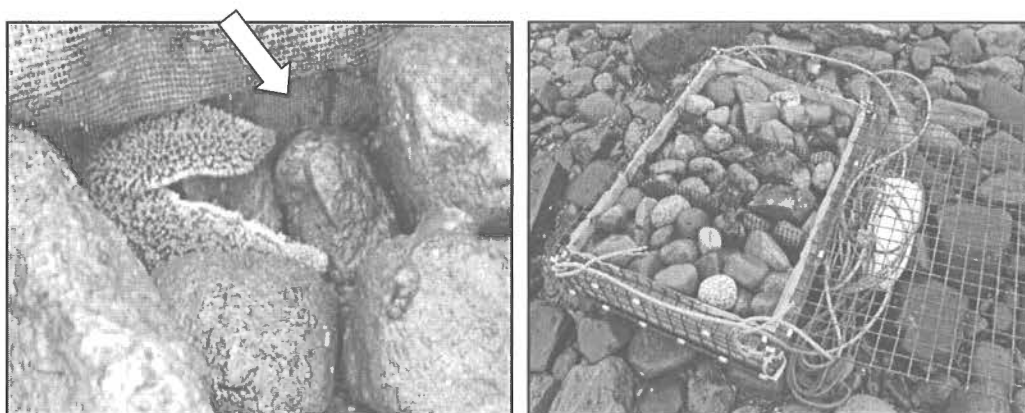


Photo : Greg Wittig (2012)

Figure 6. Exemple d'un collecteur divisé en 3 sections (image de droite) et du plateau de maille inférieur retrouvé au fond de chaque collecteur (image de gauche) utilisé lors de l'échantillonnage d'octobre 2011.

### 2.2.5 Identification et mesures des invertébrés

Les organismes ont été triés au hasard, et seuls les 20 à 30 premiers individus de chaque espèce ont été mesurés afin d'avoir une distribution des tailles représentative des populations prélevées. Les organismes ont été mesurés à l'aide d'une règle micrométrique et identifiés à partir de différentes clés d'identification et de la taxonomiste Marie-Josée Maltais, en collaboration/validation des identifications avec Gerhard Pohle de l'Atlantic Reference Center (ARC).

## 2.2.6 Analyses statistiques et traitement des données

Les données d'abondance des espèces notées sur les 16 galets de la zone intertidale au temps 0 ont été extrapolées selon le nombre de galets contenus dans chaque collecteur puis soustrait des valeurs d'abondances suite aux 5 mois de submersion. Cette soustraction a été réalisée afin de retirer l'effet des communautés de départ présentes sur les galets de l'intertidale au temps = 0 de l'expérience et de comparer uniquement le recrutement observé sur les deux types de substrat pendant l'expérience. Une visualisation graphique de la structure des communautés basée sur le coefficient de similarité Bray-Curtis a ensuite été réalisée par la méthode de positionnement multidimensionnel non-métrique [Multidimensional scaling (MDS)]. Cette représentation bidimensionnelle permet de visualiser les différences de similarité sous forme d'une distance non-métrique. Ainsi, les collecteurs dont la composition est plus similaire se retrouvent plus près l'un de l'autre sur le graphique tandis que les collecteurs de composition différente seront plus éloignés l'un de l'autre. Le « coefficient de stress » de Kruskal permet de déterminer à quel point la visualisation bi-dimensionnelle obtenue est fidèle ou non à la réalité multidimensionnelle des données ; un coefficient supérieur ou égal à 0,2 est généralement jugé trop élevé indiquant une représentation graphique faible, tandis que sous 0,1 la représentation graphique est considérée suffisamment juste (Clarke et Warwick, 2001; Kruskal, 1964). Dans un deuxième temps, une analyse de similarité (ANOSIM) a été pratiquée afin de confirmer si les différences inter-traitements (substrat) apparentes lors de la visualisation graphique étaient statistiquement significatives. L'analyse de similarité permet de tester si les variations observées entre les réplicats d'un même traitement sont significativement moins importantes que celles observées entre les traitements eux-mêmes (Clarke et Warwick, 2001). Une série d'ANOSIM a été répétée sur les données suite à diverses transformations (racine carrée, transformation logarithmique et matrice présence/absence) afin d'évaluer si l'effet du type de substrat demeure significatif à mesure que l'on accorde graduellement moins d'importance aux espèces les plus abondantes et relativement plus d'importance aux espèces les moins abondantes. La contribution de chaque espèce à la dissimilarité observée suite à l'ANOSIM a ensuite été évaluée à l'aide d'une analyse de

similarité par pourcentage (SIMPER) (Clarke et Warwick, 2001). Toutes les analyses multivariées ont été réalisées à l'aide du logiciel PRIMER v5 (Clarke et Warwick, 2001). Ces mêmes analyses ont aussi été pratiquées sur les données de « settlers » et « crawl-ins » séparément, afin d'évaluer la structure des communautés benthiques associées. Les « settlers » sont les individus qui ont colonisé le substrat en tant que larve alors que les « crawl-ins » sont les individus qui se sont déplacés à l'intérieur des collecteurs suite à leur métamorphose. Chaque individu a dû être pris en compte selon la distribution des tailles de chaque espèce et à l'aide du protocole de détermination des « settlers » (voir ANNEXE IV).

Des analyses univariées (Test de Mann-Whitney, Test de Student, Test de Wilcoxon pour échantillons appariés) ont aussi été réalisées afin de déterminer si le type de substrat a influencé le recrutement de l'espèce allochtone *Ciona intestinalis* et si l'abondance des espèces recensées était significativement différente entre les deux types de substrats. Finalement, un test de corrélation de Pearson a permis de vérifier si l'abondance de *C. intestinalis* était corrélée à la diversité spécifique retrouvée dans les cages déployées à Beaver Harbour en 2009, 2010 et 2011. Les analyses univariées ont été réalisées à l'aide du logiciel JMP 10 et IBM SPSS Statistics 22.

### 2.3 RESULTATS

La composition des communautés de départ (Temps = 0) sur les galets de la zone intertidale a été déterminée à partir de 16 galets prélevés au moment du remplissage des collecteurs du substrat naturel. L'abondance de chaque espèce identifiée a été extrapolée à  $n$  galets ( $n$  = nombre de galets par collecteur) à des fins de comparaison avec l'ensemble des collecteurs déployés, ceci en assumant qu'il existe une relation linéaire entre le nombre de galets examinés et l'abondance des organismes. Les 5 espèces les plus abondantes étaient les vers polychètes *Circeis spirillum* et *Spirorbis spirorbis* ainsi que la moule bleue, *Mytilus edulis/trossulus*, l'acmée *Testudinalia testudinalis* et *Littorina saxatilis* (Figure 7). Les distributions de tailles des espèces ayant été mesurées confirment que les individus présents au départ ne sont pas tous les mêmes que ceux observés à la fin de l'expérience.

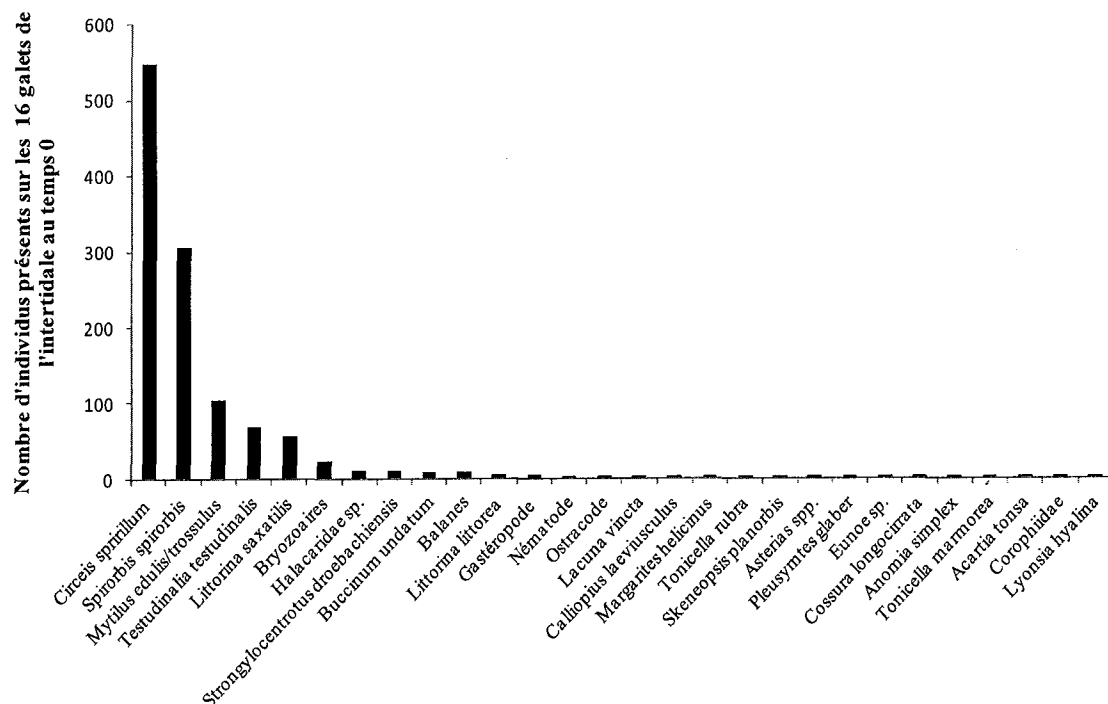


Figure 7. Histogramme d'abondance totale des espèces présentes sur les 16 galets de la zone intertidale au Temps 0 de l'expérience (avant l'extrapolation).

Au total, 243 espèces ont été identifiées dans les 16 collecteurs déployés à Beaver Harbour. L'abondance des individus variait grandement d'une espèce à l'autre, allant d'un seul représentant chez 51 espèces jusqu'à 14 420 et 38 761 individus pour les deux espèces les plus abondantes, *Anomia simplex* et *Circeis spirillum* respectivement (deux espèces encroûtantes). Plusieurs espèces (67 %) ont été recensées à la fois dans les collecteurs avec substrat naturel et artificiel, tandis que seulement 16 % d'entre elles furent retrouvées exclusivement sur les galets dénudés d'organismes et 17 % uniquement sur les galets colonisés dans la zone intertidale. Fait important à mentionner, les espèces les plus abondantes ont été retrouvées à la fois sur les deux types de substrats et très peu de différences en termes d'abondance ont pu être notées entre les deux substrats (Figure 8). Les espèces qui furent seulement retrouvées sur un des deux substrats étaient les espèces les moins abondantes, variant de un à six individus au total dans les huit collecteurs d'un substrat donné (Figure 8).



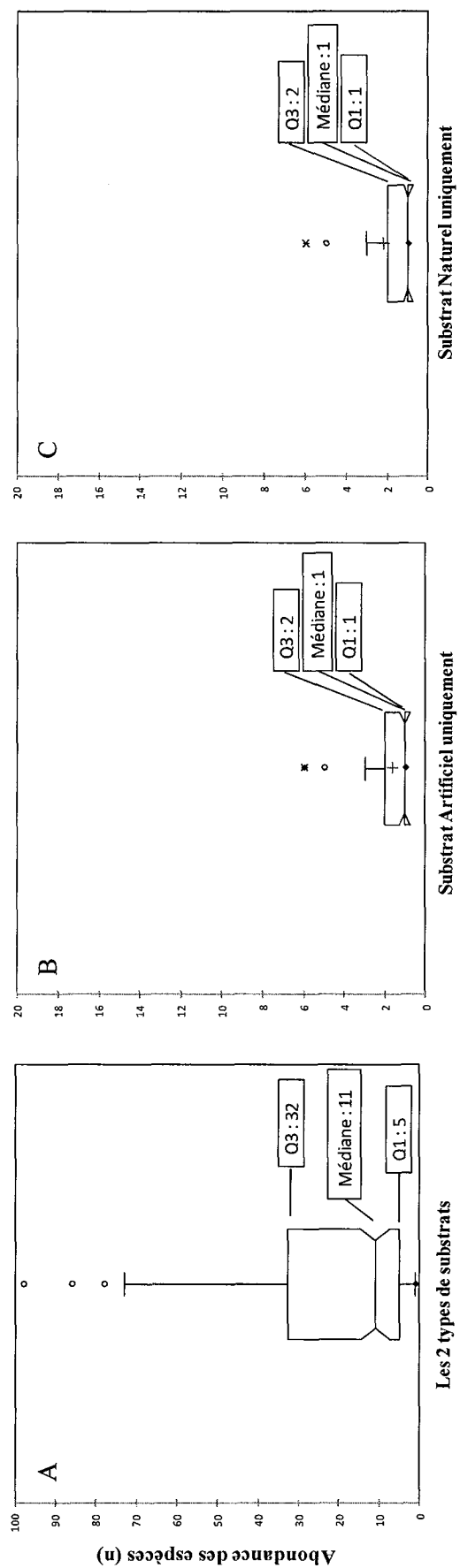


Figure 8. Boîte à moustache illustrant l'abondance des espèces retrouvées selon le type de substrat colonisé : (A) les 2 types de substrats (Min : 1 ; Max : 38 761 ; Moyenne : 471,18 ; Médiane : 11 ; Q1-Q3 : 5-32) ; (B) le substrat Artificiel uniquement (Min : 1 ; Max : 6 ; Moyenne : 1,58 ; Médiane : 1 ; Q1-Q3 : 1-2) ; (C) le substrat Naturel uniquement (Min : 1 ; Max : 10 ; Moyenne : 2,21 ; Médiane : 1 ; Q1-Q3 : 1-2) ; les échelles d'abondance ont toutes été coupées à 100 et à 20 pour une meilleure comparaison des données

### 2.3.1 Structure des communautés de la macrofaune benthique

La représentation graphique (MDS) des données non transformées démontre une ségrégation nette des collecteurs associés à chacun des deux types de substrat (Figure 9). Les collecteurs ayant été remplis de galets prélevés dans la zone intertidale sont regroupés entre eux tandis que les autres, remplis de galets de carrière, forment un deuxième groupe bien distinct. Le coefficient de stress de 0,1 confirme que cette représentation visuelle se rapproche de la similarité multidimensionnelle réelle des collecteurs (Kruskal, 1964).

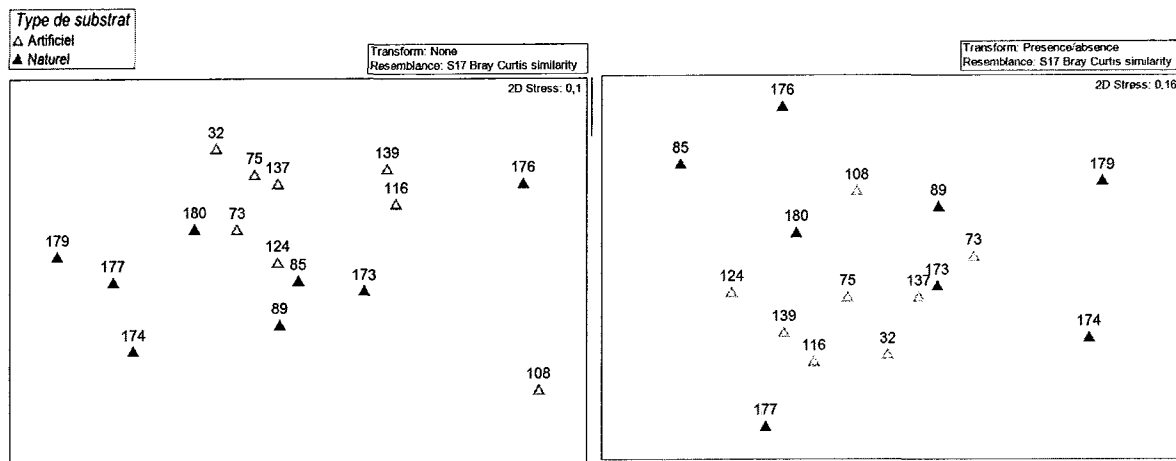


Figure 9. Représentation spatiale non-métrique (nMDS) de la composition des communautés observées dans les collecteurs remplis de galets de carrière (artificiel) et de galets de la zone intertidale (naturel) à partir des données non transformées (panneau du-haut à gauche ; coefficient de stress = 0,1) et d'une matrice de présence/absence (panneau de droite ; coefficient de stress = 0,16). Les abondances d'espèces encroûtantes à T = 0 ont préalablement été soustraites des abondances finales notées sur les galets naturels

Le collecteur #108, rempli de galets de carrière, se trouve à une distance relativement grande de tous les autres collecteurs, suggérant que l'assemblage des communautés benthiques retrouvé dans ce collecteur est différent de tous les autres collecteurs déployés. Suite à une comparaison visuelle du contenu des collecteurs, il semble que des abondances beaucoup plus importantes de *Caprellidae*, d'*Aeginina longicornis*, aussi de la famille des *Caprellidae* ainsi que de moules bleues (*Mytilus edulis/trossulus*) remarquées dans ce

collecteur pourraient potentiellement être à l'origine de la distance métrique exprimée. Bien que la ségrégation entre les collecteurs naturels et artificiels soit bien évidente elle n'est pas complète, et le contenu du collecteur #176, ayant été rempli de galets de la zone intertidale, semble davantage similaire à ceux chargés de galets de carrière. Toutefois, ces différences peuvent être simplement le reflet de la variabilité naturelle.

La répartition spatiale bidimensionnelle non métrique (nMDS) des collecteurs basée sur les données présence/absence ne démontre plus une ségrégation prononcée des collecteurs selon le traitement substrat qui leur est associé (Figure 9), tel qu'il avait été observé lorsque l'abondance des individus de chaque espèce était considérée. Il faut noter cependant que la valeur du coefficient de stress de Kruskal de 0,16 associée à cette figure nMDS est quelque peu élevée, ce qui indique que la représentation graphique observée n'est pas parfaitement fidèle à la réalité multidimensionnelle des données.

L'analyse de similarité (ANOSIM) effectuée sur les données non transformées confirme qu'il y a effectivement un effet significatif du type de substrat sur la structure des communautés retrouvées dans les collecteurs (Tableau 4). L'évolution des résultats des analyses de similarité (ANOSIM) suite à l'application de différentes transformations montre que seule une transformation extrême des données diminuant l'importance des différences au niveau de l'abondance des espèces par une matrice présence-absence démontre une diminution du  $R$  global associé à une augmentation de la valeur  $p$  au-dessus du seuil de significativité (Tableau 4). En d'autres termes, au fur et à mesure que les différences d'abondance des espèces dans différents traitements sont réduites par l'entremise de transformations graduellement plus fortes, moins les différences entre ces traitements sont prononcées. L'ANOSIM des données présence/absence révèle effectivement que l'effet substrat est marginalement non significatif lorsqu'on considère cette matrice de données dans chaque collecteur. Ainsi, l'identité des espèces retrouvées dans les collecteurs n'est pas significativement influencée par le type de substrat à coloniser, mais leur abondance l'est de façon prononcée (Tableau 4).

Tableau 4. Résultats des analyses de similarité (ANOSIM) comparant les communautés d'invertébrés retrouvées dans les collecteurs remplis de galets de carrière (artificiel) et de galets de la zone intertidale (naturel) selon différentes transformations des données

Transformation des données	Résultats de l'ANOSIM	
	R Global	P
<b>Données non transformées</b>	0,147	0,035
<b>Racine carrée</b>	0,148	0,025
<b>Log (x+1)</b>	0,177	0,028
<b>Matrice de présence/absence</b>	0,136	0,056*

\* Effet non significatif du type de substrat sur l'identité des espèces.

Au total, 4 espèces ont été responsables en grande partie de la similarité observées entre les collecteurs de même substrat tant pour les collecteurs de substrat artificiel et que ceux de substrat naturel. Ces espèces sont les polychètes *Circeis spirillum* et *Spirorbis spirorbis*, le bivalve *Anomia simplex* et les byozoaires. Les espèces ayant le plus contribué à la dissimilarité entre les communautés de substrat naturel et artificiel sont aussi majoritairement des espèces encroûtantes (Tableau 5). Le polychète *Circeis spirillum* est de loin l'espèce qui a le plus contribué à cette dissimilarité (39,09 %), ayant été deux fois plus abondant sur les galets de la zone intertidale que sur les galets de carrière. Il est aussi important de mentionner que les deux espèces contribuant le plus à la dissimilarité entre les substrats, *C. spirillum* et *A. simplex*, sont aussi celles qui ont contribué à la similarité entre collecteurs d'un même substrat. De plus, le ratio de la dissimilarité sur la déviation standard pour ces espèces confirme leur pouvoir discriminant entre les deux types de substrats (Tableau 5). Contrairement à *C. spirillum*, les 12 autres espèces ayant le plus contribué à la dissimilarité (51,04 % au total) entre les communautés de substrat naturel et artificiel ont toutes été retrouvées en plus grand nombre sur les galets exempts d'organismes au début de l'expérience.

Tableau 5. Résultats de l'analyse de similarités par pourcentage (SIMPER) réalisée à partir des données non transformées. Les espèces marquées d'un astérisque sont les seules à avoir décrit des différences d'abondances statistiquement significatives

**Groupe Artificiel**

**Similarité moyenne : 70,29 %**

Espèces	Abondance moyenne	Similarité/ Déviation standard	Contribution à la similarité (%)	Contribution à la similarité cumulée (%)
<i>Circeis spirillum</i>	1521,63	2,23	30,44	30,44
<i>Anomia simplex</i>	1113,28	3,16	24,83	55,26
Bryozoan spp.	727,58	2,77	15,34	70,6
<i>Spirorbis spirorbis</i>	593,38	4,15	13,55	84,16
<i>Heteranomia squamula</i>	109,75	2,92	2,26	86,41
<i>Mytilus edulis/trossulus</i>	241,25	1,58	2,07	88,49
<i>Hiatella arctica</i>	161,38	2,26	1,81	90,3

**Groupe Naturel**

**Similarité moyenne : 66,24 %**

Espèces	Abondance moyenne	Similarité/ Déviation standard	Contribution à la similarité (%)	Contribution à la similarité cumulée (%)
<i>Circeis spirillum</i>	2341,4	1,79	44,64	44,64
<i>Anomia simplex</i>	687,22	2,59	17,05	61,69
Bryozoan spp.	649,63	3,04	13,77	75,46
<i>Spirorbis spirorbis</i>	501,25	2,79	13,18	88,64
Anemone spp.	97,75	1,05	1,95	90,6

**Groupes Artificiel & Naturel**

**Dissimilarité moyenne : 33,85 %**

Espèces	Abondance moyenne		Dissimilarité/ Déviation standard	Contribution à la dissimilarité (%)	Contribution à la dissimilarité cumulée (%)
	Groupe Artificiel	Groupe Naturel			
<i>Circeis spirillum</i> *	1521,63	2341,4	1,48	39,09	39,09
<i>Anomia simplex</i> *	1113,28	687,22	1,6	15,06	54,16
Bryozoan spp.	727,58	649,63	1,49	11,02	65,18
<i>Mytilus edulis/trossulus</i>	241,25	98,75	0,56	6,56	71,74
<i>Spirorbis spirorbis</i>	593,38	501,25	1,2	6,22	77,95
<i>Hiatella arctica</i>	161,38	62,25	0,65	3,48	81,44
Anemone spp.	98,13	97,75	1,38	2,19	83,63
<i>Heteranomia squamula</i> *	109,75	56,75	1,36	1,78	85,41
Caprellidae	39,25	25,38	0,68	1,34	86,75
<i>Pholoe minuta</i>	32,88	26,63	1,07	1,04	87,79
<i>Ischyrocerus anguipes</i> *	41,5	12,88	1,26	0,93	88,72
<i>Crassikorophium bonellii</i>	34,13	27,5	1,8	0,83	89,55
<i>Parvicardium pinnulatum</i>	27,38	15,5	1,43	0,59	90,14

L'abondance moyenne de 106 espèces était supérieure dans les collecteurs avec substrat artificiel ( $X = 34$  individus/espèce/collecteur, Écart-type =  $\pm 142$ ) comparativement à 100 espèces dans les collecteurs avec galets de la zone intertidale ( $X = 37$  individus/espèce/collecteur, Écart-type =  $\pm 332$ ). En ne tenant compte uniquement des espèces présentes à la fois sur les deux types de substrats, 67 espèces étaient plus abondantes sur le substrat artificiel ( $X = 52$  individus/espèce/collecteur, Écart-type =  $\pm 176$ ) comparativement à 54 sur le substrat naturel ( $X = 67$  individus/espèce/collecteur, Écart-type =  $\pm 451$ ). Les grands écart-types observés sont dus essentiellement à l'abondance de *C. spirillum* et d'*A. simplex*.

Les résultats du test signé des rangs de Wilcoxon établit toutefois que la différence de l'abondance des espèces dans les deux types de collecteurs de différents substrats, considérant exclusivement les 67 espèces retrouvées sur les deux types de substrat, n'est pas significativement différente ( $Z = -1,236$  ;  $p = 0,217$ ) (Figure 10). Les espèces ayant été retrouvées en abondance supérieure sur le substrat naturel étaient principalement des espèces herbivores, en plus du polychète tubicole *C. spirillum* déjà mentionné (Tableau 7). Toutefois, les résultats du test non-paramétrique Mann-Whitney confirment que ces différences furent statistiquement significatives pour deux des cinq espèces de brouteurs, *Tonicella rubra* ainsi que l'acmée *Testudinalia testudinalis* (Figure 11).

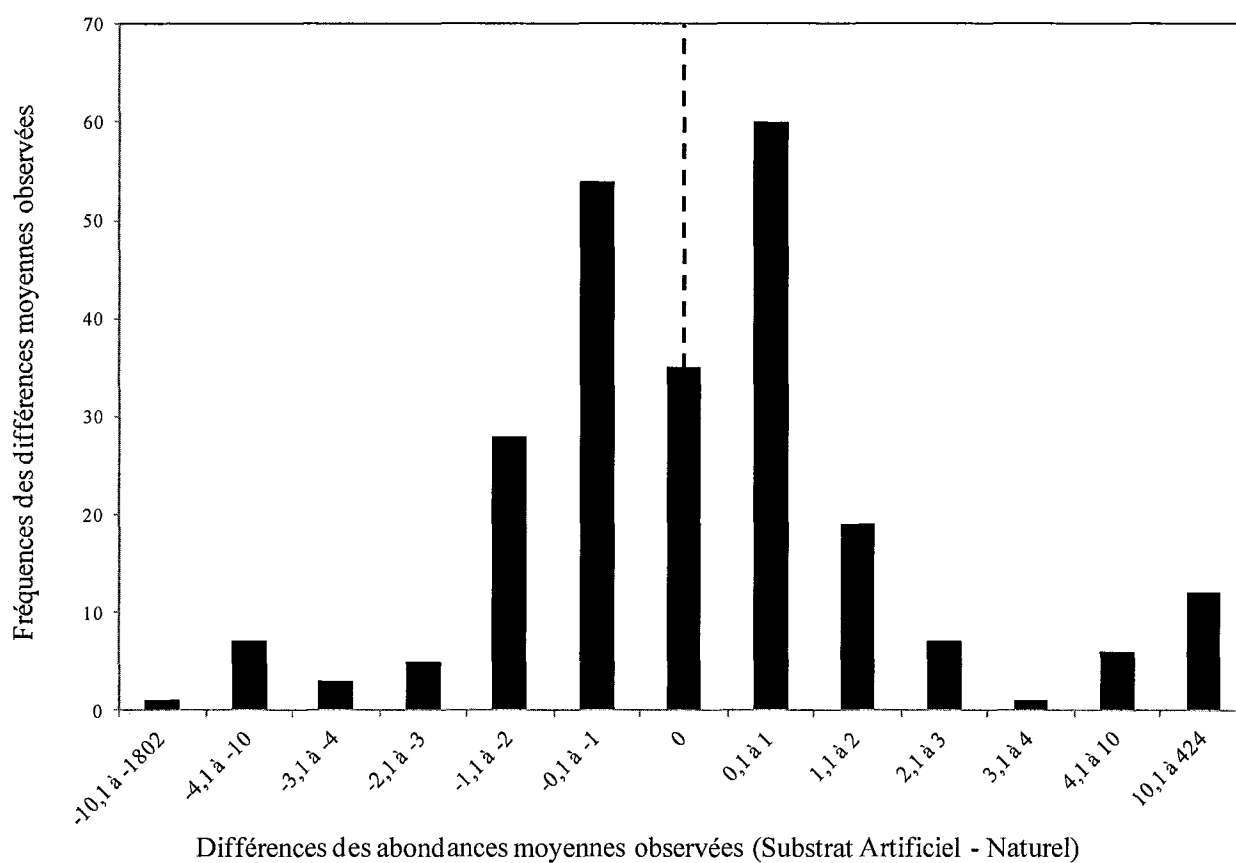


Figure 10. Histogramme de fréquence des différences d'abondances moyennes par espèce observées sur le substrat Artificiel par rapport à celles dénombrées sur le substrat Naturel (substrat artificiel-substrat naturel). La différence 0 correspond à la valeur médiane observée (en pointillés sur le graphique)

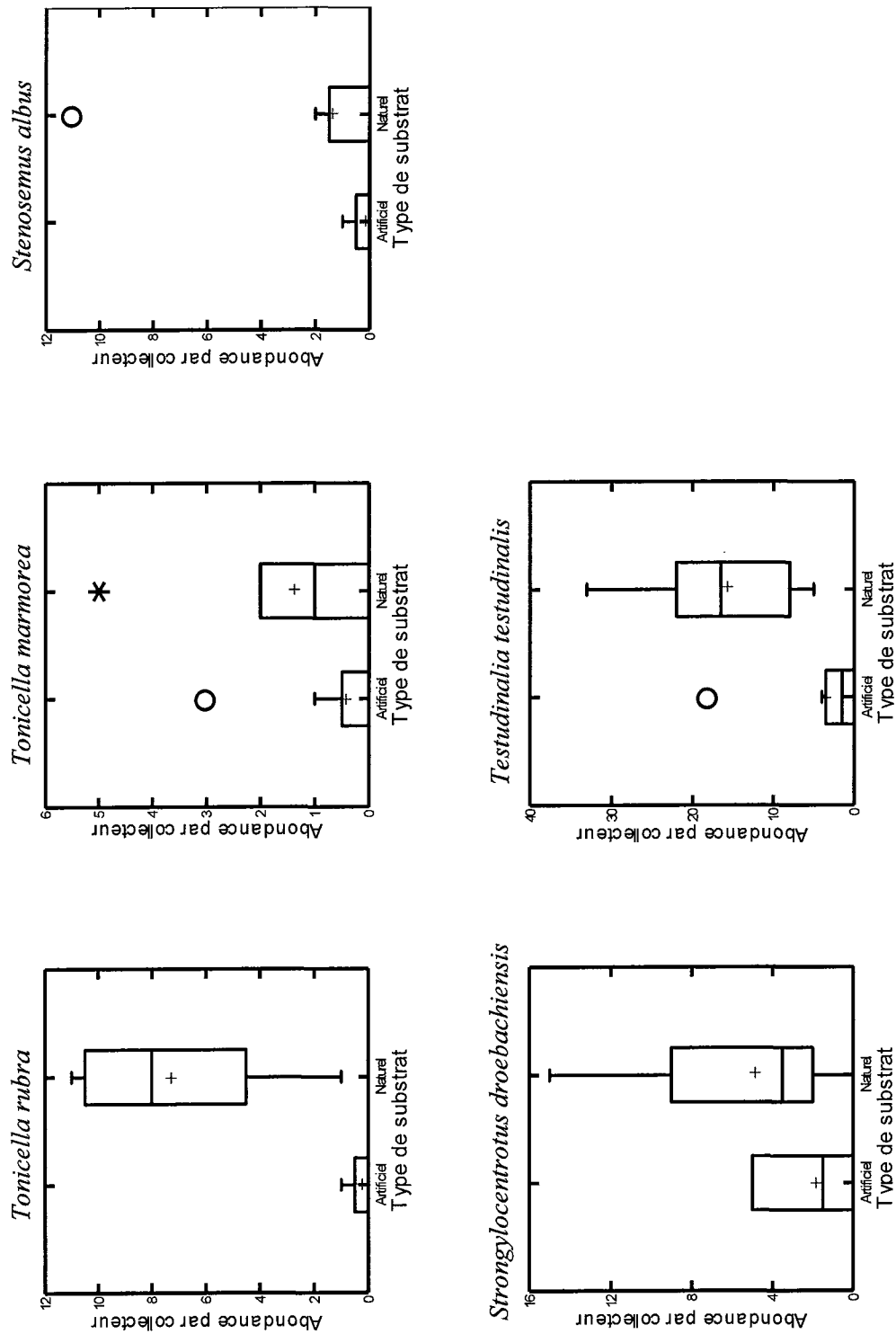


Figure 11. Diagramme en boîte comparant les espèces de brouteurs plus abondantes sur les galets naturels et résultats du test Mann-Whitney détaillés dans la légende (*Stenosemus albus* (U Test = 26,0 ;  $p = 0,442$ ) ; *Strongylocentrotus droebachiensis* (U Test = 19,5 ;  $p = 0,183$ ) ; *Testudinalia testudinalis* (U Test = 4,0 ;  $p = 0,003$ ) ; *Tonicella rubra* (U Test = 1,0 ;  $p = 0,001$ ) ; *Tonicella marmorea* (U Test = 20,0 ;  $p = 0,163$ )). Les box plot représentent 50 % de l'étendue des valeurs observées (boîte), la médiane (trait), la moyenne (+) et les valeurs min-max (cercles vides (valeurs atypiques), astérisques (valeurs atypiques « outliers »)).





L'analyse de similarité (ANOSIM) a par ailleurs confirmé qu'il y a un effet significatif du type de substrat sur le recrutement des espèces benthiques en tant que larves planctoniques, ou « settlers » (R Global : 0,144 ;  $p$  : 0,048 ; Tableau 6). Tel qu'avait été observé lors de l'analyse globale incluant settlers et crawl-ins, les résultats obtenus pour les settlers présentent une augmentation graduelle du R global, associé à une diminution du p-value, au fur et à mesure qu'on attribue moins d'importance à l'abondance des individus par une série de transformations des données. Plus précisément, l'augmentation graduelle du R Global observée signifie que plus on transforme les données, plus les collecteurs de même substrat sont davantage similaires entre eux qu'avec ceux de substrat différent. Plus le R Global augmente, plus la significativité devient importante (Diminution du p-value). Lorsque l'on considère uniquement l'identité des espèces (matrice présence/absence), la différence n'est plus significative (R Global : 0,123 ;  $p$  : 0,082) (Tableau 6). Seule l'analyse de la matrice présence-absence se traduit par une absence de relation significative donc, les collecteurs de même substrat sont autant similaires entre eux qu'avec ceux de substrat différent. Le type de substrat a eu une grande influence sur l'abondance d'individus des différentes espèces recrutées en tant que larves (settlers), mais peu d'influence sur l'identité de ces espèces. Dans l'ensemble, 66% des espèces ayant été recrutées dans les collecteurs en tant que « settlers » ont été retrouvées sur les deux types de substrat, alors que 21% et 13% ont uniquement colonisé les collecteurs comprenant un substrat naturel et artificiel, respectivement.

Tableau 6. Résultats de l'ANOSIM suite aux transformations des données de « settlers » exclusivement

Transformation des données	Résultats de l'ANOSIM	
	R Global	P
<b>Données non transformées</b>	0,144	0,048
<b>Racine carrée</b>	0,174	0,021
<b>Log (x+1)</b>	0,257	0,008
<b>Matrice de présence/absence</b>	0,123	0,082*

\* Effet non significatif du type de substrat sur l'identité des espèces.

Les analyses SIMPER ont démontré que les espèces responsables des similarités entre les réplicats de chaque traitement sont les mêmes (Tableau 7) que celles révélées lors des analyses précédentes comprenant les « settlers » et les individus rampants (Tableau 5). Par contre, le pourcentage de dissimilarité moyen entre les deux types de substrat est légèrement plus élevé (51,3% au lieu de 35,7% pour les « settlers » et organismes rampants ensembles). Ainsi, il est possible que les individus rampants aient contribué à homogénéiser quelque peu les communautés de settlers très différentes sur substrat naturel et artificiel.

Tableau 7. Résultats de l'Analyse de similarité par pourcentage (SIMPER) sur les "settlers" exclusivement

**Groupe Artificiel**

**Similarité moyenne : 71,08 %**

Espèces	Abondance moyenne	Similarité/ Déviation standard	Contribution à la similarité (%)	Contribution à la similarité cumulée (%)
<i>Circeis spirillum</i>	1521,63	2,26	31,36	31,36
<i>Anomia simplex</i>	1113,28	3,23	25,6	56,96
Bryozoan spp.	728	2,77	15,9	72,86
<i>Spirorbis spirorbis</i>	593,38	4,08	14,05	86,91
<i>Heteranomia squamula</i>	109,75	2,95	2,34	89,25
<i>Mytilus edulis/trossulus</i>	241,25	1,54	2,16	91,41

**Groupe Naturel**

**Similarité moyenne : 67,16 %**

Espèces	Abondance moyenne	Similarité/ Déviation standard	Contribution à la similarité (%)	Contribution à la similarité cumulée (%)
<i>Circeis spirillum</i>	2341,4	1,81	45,4	45,4
<i>Anomia simplex</i>	687,22	2,56	17,43	62,83
Bryozoan spp.	649,8	2,96	14,1	76,93
<i>Spirorbis spirorbis</i>	501,25	2,73	13,49	90,42

**Groupe Artificiel & Naturel**

**Dissimilarité moyenne : 32,97 %**

Espèces	Abondance moyenne		Dissimilarité/ Déviation standard	Contribution à la dissimilarité (%)	Contribution à la dissimilarité cumulée (%)
	Groupe Artificiel	Groupe Naturel			
<i>Circeis spirillum</i>	1521,63	2341,4	1,49	41,69	41,69
<i>Anomia simplex</i>	1113,28	687,22	1,6	16,09	57,79
Bryozoan spp.	728	649,8	1,5	11,75	69,53
<i>Mytilus edulis/trossulus</i>	241,25	98,75	0,55	7,17	76,7
<i>Spirorbis spirorbis</i>	593,38	501,25	1,21	6,63	83,33
<i>Hiatella arctica</i>	161,38	62,25	0,66	3,72	87,05
Anemone spp.	98,13	97,75	1,37	2,35	89,4
<i>Heteranomia squamula</i>	109,75	56,75	1,36	1,9	91,3

Les résultats du test signé des rangs de Wilcoxon, qui est basé sur la valeur médiane des différences entre les abondances moyennes observées pour les différentes espèces, a par contre permis d'établir que l'abondance moyenne des espèces dans les deux types de collecteurs n'est pas significativement différente d'un substrat à l'autre ( $Z = 1,423$  ;  $p = 0,155$ ) (Figure 13).

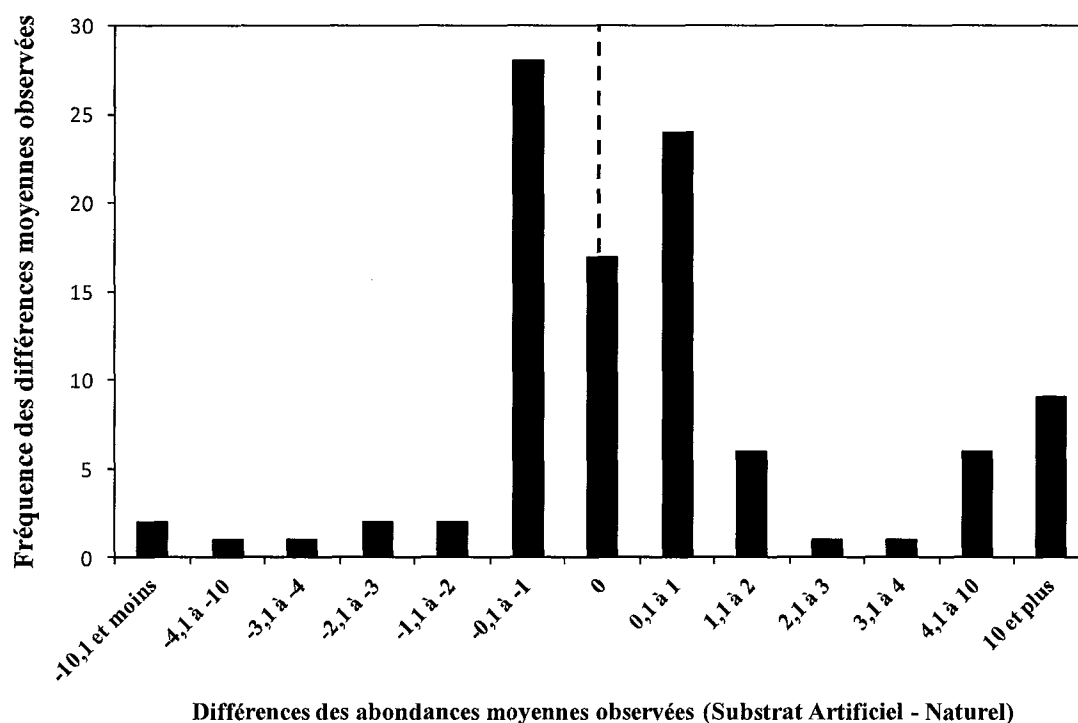


Figure 13. Histogramme de fréquence des différences d'abondances moyennes observées pour chaque espèce dans le substrat Artificiel par rapport à celles notées sur le substrat Naturel (substrat artificiel-substrat naturel). La différence 0 correspond à la valeur médiane observée (en pointillés sur le graphique)

### 2.3.3 Effet du type de substrat sur le recrutement des « crawl-ins » uniquement

Contrairement aux analyses précédentes incluant les « settlers », la représentation spatiale non-métrique (nMDS) des données non transformées pour les individus estimés avoir accédé aux collecteurs au stade juvénile ou adulte (« Crawl-ins ») ne démontre pas regroupement apparent des communautés en fonction du type de substrat (Figure 14). Le stress de Kruskal associé à ce nMDS est de 0,09, ainsi cette reproduction spatiale est une excellente représentation de la réalité observée dans les collecteurs (Kruskal, 1964). Le nMDS basé sur les données présence/absence des « crawl-ins » démontre par ailleurs une certaine ségrégation des collecteurs avec substrat naturel et artificiel, quoiqu'il existe un certain chevauchement entre les répliquats des deux types de substrats (Figure 14). Il est important de noter aussi que le coefficient de stress pour ce dernier nMDS est de 0,19, indiquant que cette image n'est pas une reproduction parfaitement fidèle de la réalité (Kruskal, 1964).

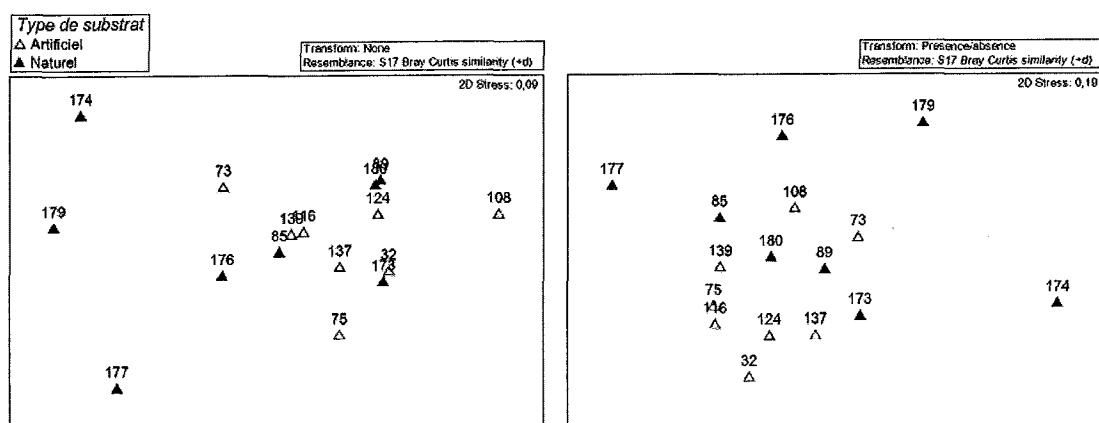


Figure 14. Représentation spatiale (nMDS) de la composition des communautés de « crawl-ins » observées dans les collecteurs remplis de galets de carrière (artificiel) et de galets de la zone intertidale (naturel) à partir des données non transformées (panneau de gauche ; coefficient de stress = 0,09) et d'une matrice de présence/absence (panneau de droite ; coefficient de stress = 0,19)

L'analyse de similarité (ANOSIM) confirme l'absence d'effet significatif du type de substrat sur l'abondance des individus de différentes espèces ayant se déplacer (i.e. crawl-ins) dans le collecteurs une fois leur métamorphose terminée (Tableau 10). Contrairement à ce qui a été observé dans les analyses incluant les « settlers », l'effet du substrat devient significatif pour les « crawl-ins » lorsque l'on transforme les données, ce qui suggère que la présence ou l'abondance de jeunes stades mobiles de certaines espèces plus rares diffère entre le substrat naturel et artificiel. Ces espèces n'ont pour la plupart pas été observées sur les galets prélevés au temps 0 de l'expérience, à l'exception de deux espèces du genre *Tonicella* ayant été dénombrées à 2 individus sur les 31 galets. Ceci démontre que l'effet observé est dû à la venue des « crawl-ins » dans les collecteurs pendant l'expérience.

Tableau 8. Résultats des analyses de similarité ANOSIM suite aux diverses transformations des données de « crawl-ins »

Transformation des données	Résultats de l'ANOSIM	
	R Global	P
<b>Données non transformées</b>	0,078	0,123*
<b>Racine carrée</b>	0,105	0,038
<b>Log (x+1)</b>	0,091	0,049
<b>Matrice de présence/absence</b>	0,163	0,020

\* Effet non significatif du type de substrat sur l'abondance des espèces.

L'analyse SIMPER réalisée à partir de la matrice présence/absence démontre tout d'abord une petite contribution d'un grand nombre d'espèces, contrairement aux analyses incluant les « settlers » où quelques espèces à elles seules étaient majoritairement responsables des similarités/dissimilarités observées. Dans ce cas-ci, 21 espèces contribuent aux similarités observées intra-traitement dans les deux types de substrat (marquées d'un astérisque dans le tableau 11. Par contre, ces mêmes espèces ne sont pas toutes responsables des dissimilarités observées entre les deux types de substrats. Les deux ordres

les plus importants en termes de participation (%) à la similarité entre collecteurs d'un même type de substrat sont les Amphipoda et les Phyllodocida, principalement les espèces appartenant à la famille des Polynoidae, soit les vers à écailles. Il est à noter que certaines espèces pouvant être associées à la zone intertidale contribuent aussi à la similarité des collecteurs ayant été rempli de galets prélevés dans cette zone. Ainsi, les chitons *Tonicella rubra* et *T. marmorata* ont contribué exclusivement à la similarité des collecteurs du substrat naturel (10%), alors que l'oursin vert (*Strongylocentrotus droebachiensis*) a contribué à la fois à la similarité des collecteurs de substrat naturel (3,75 % de contribution) et de substrat artificiel (1,74 % de contribution).

La comparaison des répliquats associés au substrat naturel à ceux associés au substrat artificiel est décrite dans le tableau 9. Seules les espèces contribuant à plus de 50% de la dissimilarité totale (51,22%) entre les deux substrats ont été conservées dans ce tableau. La grande majorité (87%) de ces espèces ont été retrouvées plus fréquemment dans les collecteurs de substrat artificiel, mais quatre espèces ont toutefois démontré le patron inverse (soulignées dans le tableau 9). Fait intéressant, ces quatre espèces sont des espèces associées à la zone intertidale. Ainsi, il est possible que le substrat artificiel, offrant plus d'espace disponible a préféablement été colonisé par les stades rampants de la majorité des espèces, mis à part ces quatre espèces dont les chitons (*Tonicella. rubra* et *T. marmorea*), le vers *Phyllodoce mucosa* ainsi que l'amphipode *Erichthonius rubricornis*, ayant toutes contribué aux dissimilarités soulevées par l'analyse SIMPER. Par contre, seules 2 (*T. rubra* et *T. marmorea*) de ces espèces étaient présentes au temps 0 de l'expérience et en abondance si faible (2 individus pour 31 galets analysés) qu'il est très peu probable que leur contribution à la dissimilarité entre substrat soit dû à leur présence au temps 0. Les résultats du test signé des rangs de Wilcoxon a permis d'établir que l'abondance des espèces diffère significativement entre les deux types de substrats ( $Z = 2,694$  ;  $p = 0,007$ ), la valeur médiane des différences moyennes observées entre les différents substrats est de 0,125 individus/collecteur (Figure 15). Ce résultat suggère une tendance générale des individus « crawl-ins » à coloniser davantage le substrat artificiel.



Tableau 9. Résultats de l'analyse SIMPER à partir d'une matrice de présence/absence des organismes rampants. Les espèces ayant contribué à la similarité intra-traitement dans les deux types de substrats sont marquées d'un astérisque

Groupe Artificiel

Similarité moyenne : 55,67%

Espèces	Incidence moyenne/ collecteur	Similarité/ Déviation standard	Contribution à la similarité (%)	Contribution à la similarité cumulée (%)
Caprellidae*	1	10,62	5,12	5,12
<i>Caridion gordonii</i> *	1	10,62	5,12	10,24
<i>Crassikorophium bonellii</i> *	1	10,62	5,12	15,37
<i>Eualus pusiolus</i> *	1	10,62	5,12	20,49
<i>Harmothoe extenuata</i> *	1	10,62	5,12	25,61
<i>Harmothoe imbricata</i> *	1	10,62	5,12	30,73
<i>Ischyrocerus anguipes</i> *	1	10,62	5,12	35,85
<i>Monocorophium ascherusicum</i> *	1	10,62	5,12	40,98
<i>Nucula delphinodonta</i>	0,88	1,67	3,9	44,88
Stenothoidae spp. *	0,88	1,67	3,9	48,78
<i>Dexamine thea</i>	0,88	1,67	3,79	52,57
<i>Frigidoalvania pelagica</i> *	0,75	1,04	2,79	55,36
<i>Pontogeneia inermis</i> *	0,75	1,05	2,78	58,14
<i>Cerebratulus</i> sp.	0,75	1,04	2,75	60,89
<i>Jassa</i> spp.	0,75	1,04	2,75	63,64
<i>Dyopedos monacantha</i>	0,75	1,05	2,67	66,31
<i>Aeginina longicornis</i> *	0,75	1,05	2,63	68,95
<i>Pleioplana atomata</i> *	0,63	0,73	1,87	70
Halacaridae spp.*	0,63	0,73	1,84	72,66
Corophiidae*	0,63	0,73	1,78	74,44
<i>Nebalia bipes</i>	0,63	0,73	1,78	76,22
<i>Eusyllis lamelligera</i>	0,63	0,73	1,77	77
<i>Strongylocentrotus droebachiensis</i> *	0,63	0,73	1,74	79,72
<i>Alteutha depressa</i> *	0,63	0,73	1,68	81
<i>Homarus americanus</i> *	0,63	0,73	1,68	83,08
<i>Nereis pelagica</i> *	0,5	0,51	1	84,19
<i>Erinaceusyllis erinaceus</i>	0,5	0,51	1	85,29
<i>Nereis zonata</i> *	0,5	0,51	1	86,38
<i>Harmothoe</i> spp.	0,5	0,51	1	87,47
<i>Crepidula fornicata</i>	0,5	0,51	1	88,55
<i>Calliopius laevisculus</i> *	0,5	0,51	1,04	89,59
<i>Pleusymtes glaber</i>	0,5	0,51	1,03	90,62

Tableau 9 (Suite). Résultats de l'analyse SIMPER à partir d'une matrice de présence/absence des organismes rampants. Les espèces ayant contribué à la similarité intra-traitement dans les deux types de substrats sont marquées d'un astérisque

Groupe Naturel

Similarité moyenne : 45,98%

Espèces	Incidence moyenne/ collecteur	Similarité/ Déviation standard	Contribution à la similarité (%)	Contribution à la similarité cumulée (%)
Caprellidae*	1	5,57	7,61	7,61
<i>Harmothoe extenuata</i> *	1	5,57	7,61	15,22
<i>Harmothoe imbricata</i> *	1	5,57	7,61	22,82
<i>Tonicella rubra</i>	1	5,57	7,61	30,43
Stenothoidae spp.*	0,88	1,6	5,62	36,06
<i>Ischyrocerus anguipes</i> *	0,88	1,62	5,42	41,48
<i>Caridion gordonii</i> *	0,75	1,02	3,91	45,39
<i>Eualus pusiolus</i> *	0,75	1,02	3,91	49,31
<i>Crassikorophium bonellii</i> *	0,75	1,03	3,78	53,08
<i>Monocorophium ascherusicum</i> *	0,75	1,03	3,78	56,86
<i>Strongylocentrotus droebachiensis</i> *	0,75	1,03	3,75	60,61
<i>Frigidoalvania pelagica</i> *	0,63	0,72	2,86	63,48
<i>Pontogeneia inermis</i> *	0,63	0,72	2,83	66,3
<i>Tonicella marmorea</i>	0,63	0,72	2,41	68
<i>Homarus americanus</i> *	0,63	0,72	2,39	71,11
<i>Erichthonius rubricornis</i>	0,63	0,72	2,37	73,48
<i>Nereis pelagica</i> *	0,5	0,51	1,62	75
<i>Alteutha depressa</i> *	0,5	0,5	1,61	76,7
<i>Achelia spinosa</i>	0,5	0,5	1,58	78,28
<i>Aeginina longicornis</i> *	0,5	0,51	1,57	79
Halacaridae spp.*	0,5	0,5	1,56	81,41
<i>Pleiolopha atomata</i> *	0,5	0,5	1,56	82,97
<i>Phyllodoce mucosa</i>	0,5	0,51	1,41	84,38
<i>Nereis zonata</i> *	0,5	0,51	1,32	85,7
Corophiidae*	0,38	0,34	0,87	86,57
<i>Ulvaria subbifurcata</i>	0,38	0,33	0,87	87,44
<i>Munna fabricii</i>	0,38	0,33	0,84	88,27
<i>Calliopius laevisculus</i> *	0,38	0,34	0,81	89,08
<i>Eteone longa</i>	0,38	0,34	0,78	89,86
<i>Asterias</i> spp.	0,38	0,34	0,75	90,61

Tableau 9 (Suite). Résultats de l'analyse SIMPER à partir d'une matrice de présence/absence des organismes rampants. Les espèces soulignées représentent celles dont la présence a été plus fréquente sur le substrat naturel que sur le substrat artificiel.

Groupes Artificiel et Naturel

Dissimilarité moyenne = 51,22 %

Espèces	Incidence moyenne/ collecteur		Dissimilarité/ Déviation standard	Contribution à la dissimilarité (%)	Contribution à la dissimilarité cumulée (%)
	Groupe Artificiel	Groupe Naturel			
<i>Dexamine thea</i>	0,88	0,13	1,81	2,44	2,44
<i>Tonicella rubra</i>	0,25	1	1,66	2,34	4,78
<i>Cerebratulus</i> sp.	0,75	0,25	1,25	1,95	6,73
<i>Nucula delphinodonta</i>	0,88	0,38	1,18	1,92	8,66
<i>Jassa</i> spp.	0,75	0,25	1,25	1,87	10,53
<i>Nebalia bipes</i>	0,63	0,13	1,17	1,82	12,35
<i>Dyopodos monacantha</i>	0,75	0,38	1	1,79	14,14
<i>Eusyllis lamelligera</i>	0,63	0,25	1	1,72	15,86
<i>Tonicella marmorea</i>	0,25	0,63	1	1,68	17,54
<i>Erichthonius rubricornis</i>	0,25	0,63	1	1,67	19,21
Corophiidae	0,63	0,38	1,03	1,62	20,83
<i>Aeginina longicornis</i>	0,75	0,5	0,97	1,55	22,37
<i>Pleioplanea atomata</i>	0,63	0,5	0,97	1,54	23,91
Halacaridae spp.	0,63	0,5	0,97	1,54	25,46
<i>Erinaceusyllis erinaceus</i>	0,5	0,25	0,98	1,54	27
<i>Alteutha depressa</i>	0,63	0,5	0,97	1,54	28,53
<i>Nereis pelagica</i>	0,5	0,5	0,97	1,54	30,07
<i>Nereis zonata</i>	0,5	0,5	0,97	1,54	31,61
<i>Achelia spinosa</i>	0,5	0,5	0,97	1,54	33,14
<i>Harmothoe</i> spp.	0,5	0,13	0,97	1,53	34,67
<i>Crepidula fornicata</i>	0,5	0,13	0,98	1,53	36
<i>Calliopius laeviusculus</i>	0,5	0,38	0,97	1,52	37
<i>Eusyllis blomstrandii</i>	0,5	0,25	0,97	1,51	39,24
<i>Pleusymtes glaber</i>	0,5	0,25	0,97	1,51	40,74
<i>Gracilipleustes gracilis</i>	0,5	0,25	0,98	1,49	42,23
<i>Homarus americanus</i>	0,63	0,63	0,92	1,48	43,71
<i>Phyllodoce mucosa</i>	0,13	0,5	0,97	1,47	45,18
<i>Tenellia fuscata</i>	0,5	0	0,98	1,45	46,63
Nematoda	0,38	0,38	0,91	1,45	48,07
<i>Asterias l.</i>	0,38	0,38	0,91	1,44	49,51
<i>Eteone longa</i>	0,38	0,38	0,92	1,42	50,93

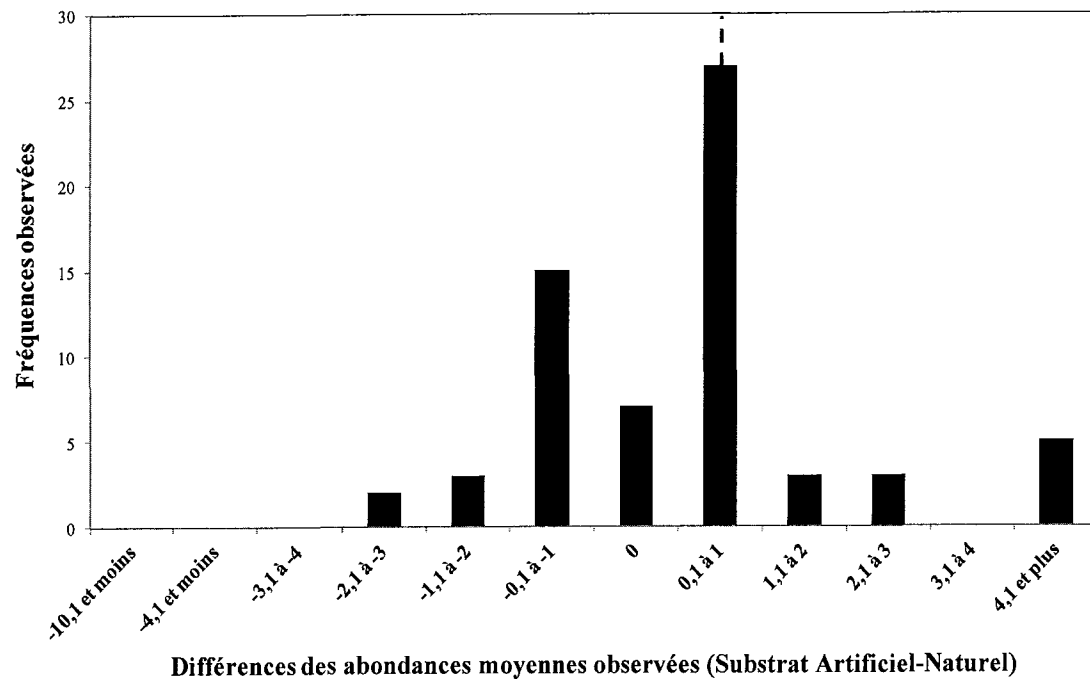


Figure 15. Histogramme de fréquence des différences d'abondances moyennes observées pour chaque espèce dans le substrat Artificiel par rapport à celles notées sur le substrat Naturel (substrat artificiel-substrat naturel). La différence 0,125 correspond à la valeur médiane observée (en pointillés sur le graphique), qui est significativement différente de la valeur médiane attendue s'il n'y avait aucune différence entre les deux types de substrats.

### 2.3.4 Effet du type de substrat sur le recrutement de l'espèce allochtone *Ciona intestinalis*

La majorité des ascidies jaunes récoltées en 2011 mesuraient entre 4 et 22 mm (Figure 16). De plus, une plus grande abondance d'individus a été observée dans les collecteurs remplis de galets de carrière plutôt que dans ceux ayant été remplis de galets naturellement colonisés de la zone intertidale inférieure (T ratio = 4,659 ;  $p = 0,0004$ ). Ainsi, une moyenne de 14 individus (Écart-type =  $\pm 4,37$ ) a été retrouvée dans les collecteurs de substrat artificiel alors qu'en moyenne 5 individus (Écart-type =  $\pm 2,88$ ) ont été dénombrés dans les cages de substrat naturel. Aucune *Ciona intestinalis* n'a été dénombrée sur les galets de la zone intertidale au temps = 0 de l'expérience.

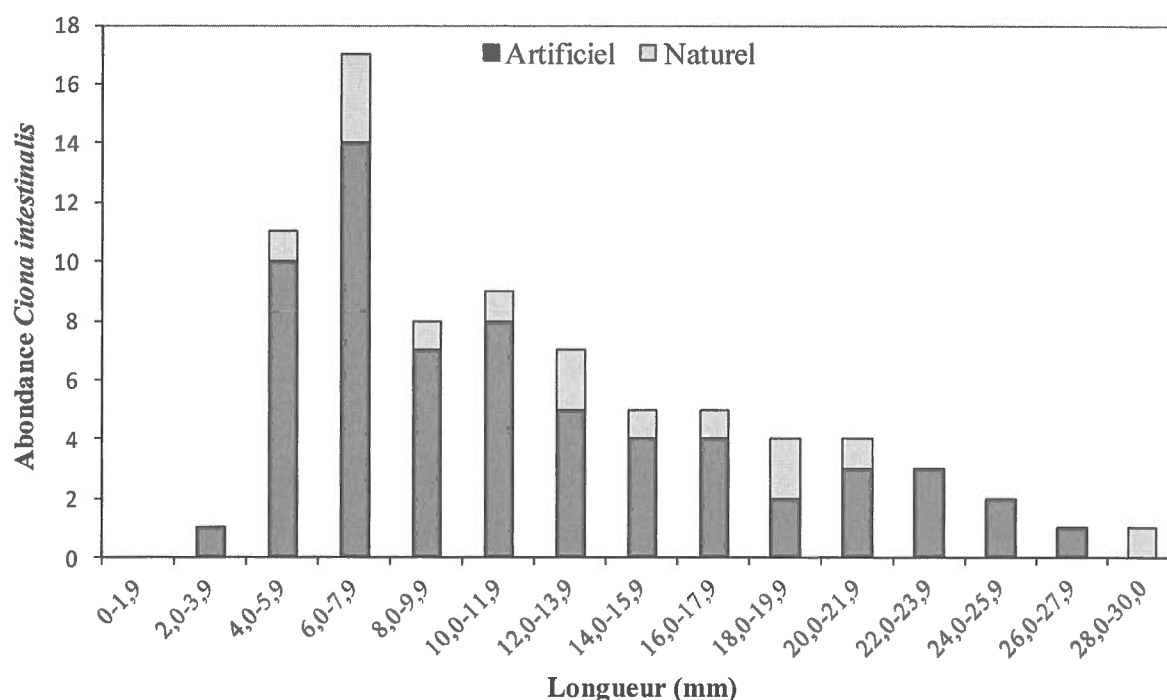


Figure 16. Histogramme des fréquences de tailles (longueur totale de la tunique) du tunicier envahissant *Ciona intestinalis* observé dans les collecteurs remplis de galets de carrière (substrat artificiel) et de galets de l'intertidale (substrat naturel)

Le test de corrélation de Pearson a révélé une absence de relation significative entre l'abondance de *Ciona intestinalis* et la diversité spécifique retrouvée à l'intérieur des collecteurs en 2009, 2010 ainsi qu'en 2011 (Figure 17). Aucune biodiversité de départ (galets nus) était présente sur les galets de 2009, 2010 et le substrat artificiel en 2011 tandis que les galets du substrat naturel eux étaient déjà colonisés par des communautés d'organismes associées à la zone intertidale. Ainsi, les espèces (diversité spécifique) tout comme *Ciona intestinalis* ont colonisé les collecteurs pendant la période d'immersion de 5 mois. La pente observée suggère toutefois que le nombre de *C. intestinalis* augmente avec le nombre d'espèces présentes au sein de la communauté sur galets de carrière, du moins en 2009 et en 2010. Les données récoltées en 2009 et en 2010 sont plus près du seuil de significativité avec des valeurs de *p-value* de 0,089 et 0,055, respectivement. Une relation positive non significative fut aussi observée sur les galets de la zone intertidale en 2011, mais non sur les galets de carrière. Les mêmes résultats ont été obtenus suite à une corrélation de Pearson entre l'abondance de *C. intestinalis* et l'indice de diversité de Shannon.

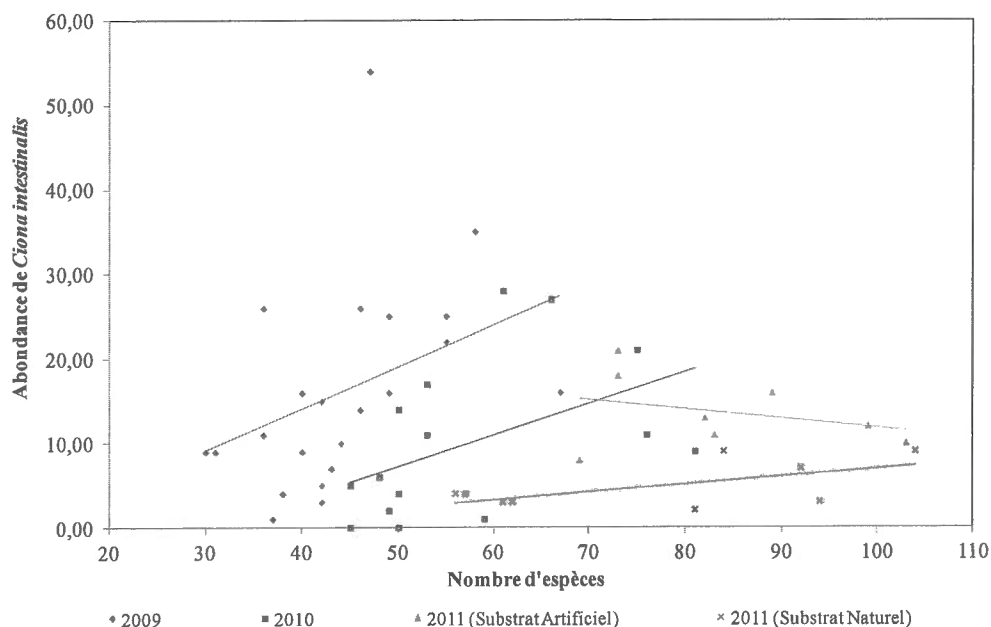


Figure 17. Relation entre l'abondance du tunicier *Ciona intestinalis* et la diversité spécifique en 2009 (galets de carrière :  $r = 0,355$ ,  $dl : 22$ ,  $p = 0,089$ ), en 2010 (galets de carrière :  $r = 0,474$ ,  $dl : 15$ ,  $p = 0,055$ ), et en 2011 (galets de l'intertidale :  $r = 0,570$ ,  $dl : 6$ ,  $p = 0,140$  ; galets de carrière :  $r = -0,321$ ,  $dl : 6$  ;  $p = 0,438$ )

## 2.4 DISCUSSION

### 2.4.1 Effet du type de substrat sur le recrutement des espèces endémiques

Le premier objectif de la présente étude était de valider l'utilisation de galets de carrière comme substrat dans les collecteurs, en comparant le recrutement des espèces endémiques sur deux types de substrats (naturel et artificiel).

#### *Choix du type de substrat à préconiser pour les études ultérieures*

Dans un souci de développer un outil permettant de suivre l'évolution de la biodiversité marine, il est important de valider l'utilisation du meilleur substrat permettant de limiter les effets induits par celui-ci sur le recrutement des invertébrés benthiques. L'utilisation de galets de carrière comparativement aux galets de l'intertidal est beaucoup plus simple et rapide puisque les collecteurs peuvent être remplis à l'avance, sur la terre ferme. Les galets de substrat naturel en contrepartie doivent être prélevés lors d'une grande marée basse, dans le bas intertidal et les collecteurs doivent être remplis directement sur place afin d'assurer la survie des spécimens présents sur les galets. Le prélèvement des galets induit une empreinte environnementale sur le milieu plus importante que celle laissée par l'utilisation de galets de carrière. Ces collecteurs doivent par la suite être repêchés sur le bateau à marée montante pour être déployés au bon endroit. Lors du présent projet, nous avons comparé le recrutement des espèces sur un substrat naturel (galets de l'intertidal) et sur un substrat artificiel (galets de carrière). Ces derniers ont été utilisés pour remplir les collecteurs depuis le début du programme, soit en 2007.

Les données recueillies ont permis de démontrer que le type de substrat utilisé influence légèrement les communautés benthiques de substrat rocheux. Cette expérience a pu justifier qu'il est maintenant acceptable de prioriser l'utilisation de galets de carrière comme substrat dans les collecteurs puisque les espèces communes, soit les espèces les plus abondantes, ont colonisé à la fois les deux types de substrats. Une série d'ANOSIM réalisée sur les données (toutes les espèces) suite à diverses transformations ont permis d'établir que les mêmes espèces ont pu être présentes dans les deux types de collecteurs,

mais leur abondance était différente d'un substrat à l'autre. Ces différences étaient principalement dûes à un petit nombre d'espèces encroûtantes énormément abondantes sur les deux substrats. Les mêmes résultats ont été obtenus à partir des données de « settlers » uniquement. Dans les deux cas les espèces responsables des différences notées inter substrats étaient principalement les vers polychètes de la famille des Spirorbidae, les bryozoaires et les bivalves de la famille Anomiidae. Ces dernières sont considérés comme des espèces colonisatrices très rapides qui peuvent envahir un nouvel espace dans une période allant de 1 à 4 mois seulement (Sebens, 1986). Il est important de noter que ces espèces ont été retrouvées en très grand nombre dans tous les collecteurs, et qu'elles ont dominé les communautés de substrat naturel ( $\approx 2\%$  de toutes les espèces, mais 88% des individus) ainsi qu'artificiel ( $\approx 3\%$  de toutes les espèces, mais 88% des individus). La raison pour laquelle ces espèces sont principalement responsables des différences observées est que leur abondance a différé entre les deux substrats. Les analyses réalisées à partir des données de « crawl-ins » uniquement ont quant à elles démontré que les assemblages des deux traitements (Substrats) ne sont pas statistiquement différents en termes d'abondance des individus. Ainsi, un grand nombre d'espèces ont légèrement contribué à la dissimilarité entre traitement de 51% observée. Les différences observées en terme de présence d'espèces peu abondantes est probablement en partie le reflet d'un échantillonnage insuffisant, et ne reflète pas nécessairement de véritables différences au niveau de la tendance de ces espèces à coloniser les différents substrats.

De façon générale, la majorité des espèces (67%) ont été recensées sur les deux substrats avec un minimum de 2 individus par espèce et un maximum de 38 761 individus au total (5510 individus maximum dans un seul collecteur) pour l'espèce la plus abondante, soit le ver *Circeis spirillum*. Les espèces exclusives à un seul type de substrat sont les moins abondantes allant de 1 à 6 individus au total pour les espèces associées exclusivement aux galets de carrière comparativement à un minimum de 1 à 10 individus par espèce pour les galets de l'intertidale. Finalement, les différences notées entre les deux substrats sont au niveau de la déposition et de la sélection post-déposition des larves davantage que les individus rampants dans les collecteurs. Ainsi, l'emploi de galets de



carrière comme substrat dans les collecteurs peut maintenant être préconisé, dans la mesure où il permet de répondre à la problématique étudiée.

*Différent patrons de colonisation chez les organismes « crawl-ins »*

Les patrons de colonisation pour les individus « settlers », qui étaient de loin les plus abondants, étaient très similaires à ceux décrits précédemment concernant l'ensemble des espèces, mais les espèces rampantes démontraient des patrons différents. Les analyses multivariées réalisées à partir des données non transformées d'abondance des individus rampants exclusivement illustrent l'absence d'effet du type de substrat sur le recrutement des espèces mobiles. Lorsque l'on considère uniquement l'abondance des espèces, aucune différence statistiquement significative n'a été décelée entre les deux substrats. L'une des grandes différences entre l'analyse de similarité réalisée sur les individus rampants exclusivement de celle réalisée sur la totalité des individus prélevés est l'abondance des espèces analysée. Les individus rampants (crawl-ins) étaient beaucoup moins abondants dans les collecteurs que les « settlers », ce qui peut être à l'origine de l'absence d'effet selon le substrat en terme d'abondance. Les différences observées entre les deux traitements sont dues à l'identité des espèces retrouvées dans les collecteurs tandis que leurs abondances étaient similaires sur les deux substrats.

Un effet significatif du type de substrat sur la composition des espèces a cependant pu être décelé à partir de la matrice de présence-absence et les dissimilarités observées sont distribuées sur un grand nombre d'espèces. Ainsi, un grand nombre d'espèces participent chacune d'elle à un faible pourcentage des dissimilarités observées entre les collecteurs de substrat différent. Les espèces mobiles ne demeurent pas fixées à un endroit donné pour le reste de leur vie. Elles peuvent donc rechercher leur nourriture et se déplacer en rampant ou en marchant sur le substrat dans le cas où les ressources alimentaires devenaient plus rares (Pérès, 1976). En ce sens, elles sont moins dépendantes du type de substrat qu'elles explorent lors de leur phase planctonique que les espèces sessiles. Par contre, les espèces mobiles, principalement au stade juvénile, sont soumises à une forte pression de prédation lors des mouvements migratoires (Hunt et Scheibling, 1997). L'analyse SIMPER a

démontré que de façon générale, les espèces présentes étaient plus fréquemment retrouvées sur le substrat artificiel que sur le substrat naturel. La contribution de chaque espèce aux dissimilarités observées inter substrat était très faible (- de 2,5% de contribution à 51% de dissimilarités). Seulement quatre espèces semblent avoir été observées plus fréquemment dans les collecteurs remplis de galets de l'intertidal (jusqu'à concurrence de 50% de contribution à la dissimilarité) dont deux espèces de chitons brouteurs/herbivore (*Tonicella rubra* et *T. marmorea*), un amphipode détritivore *Erichthonius rubricornis* ainsi qu'un ver polychète carnivore, *Phyllodoce mucosa*. De ces quatre espèces, seul le chiton *T. rubra* a démontré des différences significatives entre les deux substrats ( $p = 0,001$ ), les trois autres n'ayant été qu'observé plus fréquemment sans démontré toutefois de différences significatives. Les individus du stade rampant de cette espèce ont suivi la même tendance que les « settlers » et ont hypothétiquement été attiré par la présence d'algue coralline sur les galets de l'intertidale.

#### *Caractéristiques du substrat*

L'espace disponible et la tendance générale des espèces à coloniser le substrat artificiel

De façon générale, l'abondance des espèces ayant le plus contribué aux dissimilarités observées inter substrat (33,85%) était supérieure sur les galets dénudés d'organismes au temps 0 de l'expérience (substrat artificiel). Cette tendance générale démontre une propension des espèces benthiques à coloniser les surfaces vierges offrant beaucoup d'espace disponible. Les galets prélevés en carrière sont considérés ici comme un substrat artificiel puisqu'il s'agit d'une structure nouvellement immergée et offrant aux invertébrés de la zone subtidale un nouvel espace à coloniser (Davis, 2009). Sur les surfaces de substrat rocheux des zones tempérées, les systèmes sont souvent limités par l'espace disponible sur le substrat primaire et les espèces sessiles doivent entrer en compétition pour cette ressource limitée (Davis, 2009; Little et Kitching, 1996; Pérès et Devèze, 1963). Le développement des assemblages benthiques se retrouve donc grandement influencé par cette ressource rare. Dans le cas présent, les galets de la zone intertidale (substrat naturel) offraient moins d'espace disponible que le substrat artificiel, puisqu'au moment du

remplissage des collecteurs ils étaient partiellement recouvert d'algues corallines du genre *Lithothamnion* ainsi que d'invertébrés généralement associés à cette zone littorale. Le problème lié à l'espace disponible est d'autant plus important pour les formes sessiles puisque les larves doivent d'abord trouver un espace à combler, mais par la suite, chacune d'elles doit impérativement « occuper l'espace » pour éviter d'entrer en compétition avec d'autres individus de la même espèce ou d'espèces différentes et risquer d'être délogées (Pérès et Devèze, 1963). De cette façon, la compétition pour l'espace peut se traduire par une prolifération directe des organismes, souvent coloniaux, déjà présents dans le milieu, limitant ainsi l'espace disponible pour l'établissement de nouveaux individus.

#### *Le cas du polychète *Circeis spirillum**

Même si la majorité des espèces ont préférablement colonisé les galets offrant plus d'espace disponible, une minorité d'espèces ont démontré un comportement de recrutement différent en colonisant préférablement les galets de l'intertidale. L'espèce tubicole *Circeis spirillum* représente l'espèce majoritairement responsable de la discrimination inter substrat. Les résultats démontrent que près de deux fois plus d'individus appartenant à cette espèce ont été associées aux collecteurs remplis de galets prélevés dans l'intertidale relativement aux cages remplis de galets de carrière. Celle-ci fut parmi les plus abondantes sur les deux types de substrat et ces différences d'abondance ont grandement contribué à la dissimilarité observée entre les deux substrats. Plus précisément, la différence de l'abondance moyenne de *C. spirillum* entre les deux types de substrats est de 820 individus/collecteur. En comparaison, le vers *Spirorbis spirorbis* n'a démontré aucune différence d'abondance significative entre les deux substrats ( $p = 0,265$ ). Ces deux espèces de la famille des Spirorbidae étaient présentes sur les galets de la zone intertidale au temps 0 de l'expérience. Afin d'éliminer toute ambiguïté, les données d'abondances notées sur les galets naturels au temps = 0 de l'expérience ont préalablement été soustraites des données d'abondances finales dans les collecteurs de substrat naturel.

Le vers *C. spirillum* (1060 ind./31 galets) était deux fois plus abondant au début de l'expérience que l'espèce *Spirorbis spirorbis* (595 ind./31 galets). Il est difficile de

discriminer le nombre exact d'individus présents au départ de ceux toujours présents à la fin de l'immersion puisqu'aucune mesure de longueur n'a été réalisée sur les espèces encroûtantes. Toutefois, les abondances de *C. spirillum* notées sur les galets de l'intertidal au temps = 0 ont été soustraites des données relevées à la fin de l'expérience et les abondances de ce polychète demeurent malgré tout beaucoup plus importantes sur le substrat naturel que sur le substrat artificiel. Il est ainsi raisonnable de conclure que cette espèce a colonisé les galets du substrat artificiel en plus grand nombre que les galets de l'intertidale puisqu'ils étaient déjà présentes sur ces derniers au temps ( $T=0$ ) de l'expérience et absents des galets de carrière. À la fin de l'expérience, *S. spirorbis* était distribué de façon très égale sur les deux substrats et ce, après soustraction des valeurs d'abondance notées sur les galets au temps 0 de l'expérience, mais son abondance moyenne était légèrement inférieure sur les galets colonisés de la zone intertidale. Cette observation suggère qu'un élément différait entre les deux substrats ayant attiré une espèce et non l'autre.

Plusieurs éléments peuvent avoir influencé les nouveaux arrivants appartenant à l'espèce *C. spirillum*. Ce patron s'explique peut-être par la présence de congénères adultes déjà présents sur les galets de la zone intertidale au début de l'expérience ou encore la présence d'un biofilm composé de microalgues et de bactéries. Les larves de ces espèces possèdent une très courte phase planctonique variant de 15 minutes à 24 heures dans le cas du vers *S. spirorbis* (Doyle, 1975). Elles sont fertilisées puis incubées dans la coquille de l'adulte pour achever leur développement embryonnaire avant d'être expulsées hors du tube calcaire parental sur le substrat environnant (Christian *et al.*, 2010). Tout comme les balanes, les larves des Spirorbidae sont sensibles aux composés du ciment des adultes et tendent à être grégaires, à s'établir près de leurs congénères déjà bien ancrés (Hadfield et Paul, 2001; Little et Kitching, 1996). Ceci pourrait expliquer la préférence des individus *C. spirillum* pour le substrat naturel tandis que le vers *S. spirorbis* lui, a colonisé davantage le substrat artificiel exempt d'adultes au temps = 0 de l'expérimentation.

### *Effet de la présence d'algues corallines et du biofilm*

La présence d'un biofilm recouvrant les galets de la zone intertidale pourrait, conjointement à la présence de l'algue encroûtante, être un inducteur de la colonisation des espèces herbivores retrouvées en densités supérieures sur le substrat naturel et du vers *C. spirillum*. Certaines espèces de vers tubicoles (*S. corallinae* et *S. rupestris*) sont attirées par la présence d'algues calcaires du genre *Lithothamnion*, mais rien dans la littérature ne fait mention d'une telle association avec le vers *C. spirillum*. Une expérience réalisée sur le choix d'un substrat par les larves de *Spirorbis* a pu mettre en évidence la préférence des larves de *Spirorbis spirorbis* pour se fixer sur les algues du genre *Fucus* ou autre, souvent associée aux cuvettes ou sous la ligne des marées, mais pas aux algues corallines (De Silva, 1962). La présence d'extraits de *Fucus* dans l'eau accroît la fixation larvaire de ce vers tubicole (Qian, 1999).

Ces microalgues unicellulaires constituent une ressource nutritive de choix et participent au maintien des populations d'acmés, de chitons, de littorines et autres herbivores (Little et Kitching, 1996). Les algues calcaires (*Lithothamnion*) ont déjà été reconnues comme un inducteur de l'établissement des larves d'espèces herbivores (Rodriguez *et al.*, 1993). C'est principalement le cas des chitons, des acmées et des oursins verts (Pearce et Scheibling, 1990). Un examen visuel des données d'abondances observées sur les deux substrats a démontré que cinq espèces herbivores (*Tonicella rubra* et *T. marmorea*, *Stenosemus albus*, *Testudinalia testudinalis* et l'oursin vert *Strongylocentrotus droebachiensis*) étaient plus abondantes sur le substrat naturel que sur le substrat artificiel. Seules l'acmée *Testudinalia testudinalis* ( $p = 0,0067$ ) et le chiton *Tonicella rubra* ( $p = 0,0002$ ) étaient significativement plus abondantes sur le substrat naturel que sur le substrat artificiel.

La patelle *Testudinalia testudinalis* a été observé en densité quatre fois plus importante sur le substrat provenant de l'intertidal ( $\bar{X} = 16$  individus/collecteur  $\pm 10$  ind.) que sur le substrat artificiel ( $\bar{X} = 4$  individus/collecteur  $\pm 6$  ind.). Un total de 138 individus appartenant à cette espèce avait été dénombrés sur les galets de l'intertidale au temps=0 de l'expérience, mais les mesures de longueurs notées (longueur moyenne de 9 mm  $\pm 2$  mm au

temps = 0 comparativement à  $4 \text{ mm} \pm 3 \text{ mm}$  à la fin de l'expérience) suggèrent que les individus prélevés à la fin de l'expérience ne sont pour la majorité pas les mêmes que ceux retrouvés au temps 0. Cette conclusion s'appuie fortement sur le fait que 69,1% des individus mesurés au temps 0 de l'expérience décrivaient des longueurs variant entre 6,1 et 10 mm comparativement à ceux mesurés à la fin de l'expérience où 99,6% des individus mesuraient entre 1 et 10 mm de longueur totale. Les adultes peuvent souvent atteindre 40 mm de longueur de coquille (Chabot et Rossignol, 2003; Gosner, 1971). Il est impossible de déterminer si cette préférence pour le substrat naturel est directement liée à la présence d'adultes sur les galets au début de l'expérience ou davantage à la présence d'algue coralline, sachant que cette espèce est habituellement retrouvée en eau peu profonde, dans l'étage infralittorale (Chabot et Rossignol, 2003; Gosner, 1971; Pollock, 1998). Une étude réalisée sur le comportement larvaire de la patelle *Testudinalia testudinalis* a permis d'exposer le pouvoir de trois différentes espèces d'algues corallines sur l'induction de la fixation et de la métamorphose des larves de ce brouteur (Steneck, 1982). Cette patelle posséderait certaines adaptations de sa radula lui permettant de se spécialiser dans le broutage des algues corallines plus robustes même si leur valeur nutritive est moindre que celle des algues plus tendres comme les diatomées et autres algues foliacés (Steneck et Watling, 1982; Steneck, 1982).

Un comportement de colonisation similaire en présence d'algues corallines a été observé chez les larves du chiton *Tonicella lineata* (Barnes et Gonor, 1973). Un total de 2 individus avait été identifiés sur les galets de l'intertidal au temps = 0 de l'expérience. Sur les trois espèces de chitons observées dans les collecteurs de substrat naturel, seule *Tonicella rubra* a été retrouvée en nombre suffisant pour voir un effet du type de substrat. Cette espèce peut se retrouver à des profondeurs supérieures à 90 m contrairement aux deux autres espèces de chitons, cette variable peut avoir influencé l'abondance de ces trois espèces (Brinkhurst *et al.*, 1976). Des inducteurs chimiques seraient présents à la surface des algues calcaires et pourraient éventuellement être relâchés au moment du broutage de ses cellules épithéliales par ces mollusques (Morse et Morse, 1984). Les larves relâchées dans le plancton capteraient ce composé leur dictant de s'établir à proximité de cette

ressource. Hadfield et collaborateurs ont confirmé que la métamorphose et la colonisation de plusieurs groupes d'organismes sessiles (éponges, cnidaires, polychètes, mollusques, échinodermes, bryozoaires, ascidies, etc.) pouvaient être induites par diverses composantes présentes dans le biofilm (Hadfield et Paul, 2001; Zardus *et al.*, 2008). Il est toutefois impossible dans la présente étude d'associer les abondances plus élevées d'herbivores sur les galets du substrat naturel à une conséquence directe de la présence du film biologique puisque les espèces de microalgues composants celui-ci sont inconnues et une telle conclusion nécessiterait des études comportementales où chaque variable environnementale serait manipulée et contrôlée.

#### **2.4.2 Effet du type de substrat sur le recrutement de l'espèce allochtone *Ciona intestinalis***

##### *Caractérisation de la population de Ciona intestinalis*

Les *Ciona intestinalis* récoltées lors de la présente étude mesuraient toutes moins de 30 mm de longueur totale, indiquant l'absence d'individus adultes dans les échantillons. Une étude réalisée par Carver et collaborateurs en 2003 a conclu que les individus peuvent croître de 20 mm par mois de juillet à septembre dans les eaux de la Nouvelle-Écosse (10-20°C) pour atteindre leur maturité sexuelle autour de 40 mm de longueur totale (Carver *et al.*, 2003). Les données de température collectées à l'été 2011 à Beaver-Harbour ont oscillé entre 6°C et 13°C, ce qui est légèrement en deçà des températures décrites en Nouvelle-Écosse et à l'Ile-du-Prince-Édouard (12-18°C) au moment de leur étude. Selon les résultats obtenus par ces auteurs, aucun individu adulte n'a été observé dans les collecteurs déployés dans la présente étude. Cette absence totale d'adulte s'explique par une période de submersion des collecteurs (6 mois) insuffisante pour permettre aux individus nouvellement fixés d'atteindre leur stade adulte.

##### *Effet du type de substrat sur le recrutement de Ciona intestinalis*

Le substrat artificiel a favorisé un recrutement d'individus supérieur à celui du substrat naturel. Cette différence de recrutement est probablement attribuable à l'espace disponible sur le substrat artificiel, exempt de toute présence vivante au temps 0 de

l'expérience puisqu'aucun individu appartenant à cette espèce n'a été dénombré sur les galets au début de l'expérimentation. Les ascidies comme *Ciona intestinalis*, souvent confrontées au manque d'espace disponible sur le substrat primaire, peuvent devenir très compétitrices en proliférant dans la zone subtidale, en déplaçant les espèces natives ou en altérant les propriétés des communautés déjà en place (Blum *et al.*, 2007). Par contre, la présence de certains prédateurs sur le substrat naturel a très bien pu limiter la propagation de cette espèce invasive. La prédation peut avoir des effets très néfastes sur le développement des communautés indésirables lorsque les grands prédateurs (les oursins, les étoiles de mer, les crabes) ainsi que les micro prédateurs (petits gastéropodes) sont présents (Dumont *et al.*, 2011; Nydam et Stachowicz, 2007). Les brouteurs comme l'oursin vert (*Strongylocentrotus droebachiensis*) peuvent limiter la propagation des tuniciers envahissants comme *Ciona intestinalis* en effectuant un broutage de leur tunique, ou encore en effectuant du « bulldozing » et ainsi déplacer les individus fermement fixés au substrat (Epelbaum *et al.*, 2009). La présence de l'oursin vert a possiblement soumis les nouveaux arrivants à une pression de prédation, limitant ainsi l'abondance d'individus de *C. intestinalis* observée au moment de la récolte des cages. Parallèlement, potentiellement dû à la présence d'algues calcaires, ce brouteur a été répertorié en densités plus importantes sur les galets de la zone intertidale, où les densités de *C. intestinalis* observées étaient moins importantes.

#### *Théorie de la biodiversité-stabilité d'Elton (1958)*

Les assemblages supportant davantage d'espèces natives offrent à la fois moins d'espace disponible à la colonisation, pouvant expliquer partiellement les mécanismes liés à l'effet de la diversité sur le recrutement de *Ciona intestinalis* sur le substrat naturel (Olyarnik *et al.*, 2009). Par contre, la pente de la relation entre les abondances de *C. intestinalis* notées de 2009 à 2011 et la diversité spécifique des collecteurs suggère que le nombre d'individus de l'espèce exotique augmenterait avec le nombre d'espèces présentes au sein de la communauté. Ainsi, pour tous les collecteurs, à l'exception des collecteurs de substrat artificiel (2011), il y avait une tendance positive, mais non significative entre le nombre de *C. intestinalis* et la diversité spécifique. Les collecteurs de 2009, 2010 et ceux



remplis de galets de carrière étaient exempts d'organismes au départ, les espèces, *Ciona intestinalis* y compris, ont toutes colonisé le substrat pendant la même période et les données de richesse spécifique ont été notées à la fin de l'expérience. De cette façon, cette analyse nous renseigne davantage sur le fait que plus il y a d'espèces présentes, plus il y a de *Ciona intestinalis* et non sur l'effet d'un milieu plus diversifié. Moins d'individus de l'espèce *C. intestinalis* ont été observés en 2011 que dans les deux années antérieures, probablement le reflet de la variabilité interannuelle. Une plus grande diversité spécifique a aussi été notée dans les collecteurs de 2011 en comparaison aux deux années précédentes, mais cette différence est principalement attribuable à la technique de prélèvement et de conservation des échantillons. En 2009 et 2010, les échantillons ont été conservés dans l'eau de mer tandis qu'en 2011 ils ont été maintenus dans l'éthanol (95%) assurant une meilleure préservation des tissus et des structures morphologiques.

La théorie d'Elton (1958) a été beaucoup testée par les écologistes afin de valider cette généralisation voulant qu'un milieu plus diversifié en espèces natives soit plus stable et limiterait ainsi la venue des espèces allochtones. Les résultats sont très mitigés, certaines études ont établi une corrélation négative significative entre la diversité de la communauté native environnante et l'abondance d'une espèce exotique (succès d'invasion) alors que pour d'autres, il n'en est rien (Elton, 2000; Planty-Tabacchi *et al.*, 1996; cité par Stachowicz *et al.*, 1999). Une relation négative significative entre la richesse spécifique d'une communauté benthique et le recrutement de trois espèces envahissantes sessiles a été obtenue suite à une étude au cours de laquelle la richesse spécifique était contrôlée sur des panneaux de PVC (10 cm x 10 cm) (Stachowicz *et al.*, 1999, 2002). Ces auteurs ont contrôlé à la fois le nombre d'espèces natives composant leurs assemblages ainsi que le % d'espace disponible sur les panneaux de PVC. Après deux mois d'expérimentation, ils ont observé une forte relation négative entre l'espace disponible au départ et le pourcentage de recouvrement des espèces envahissantes. Dans le cas présent, les données tendent à illustrer par contre une relation positive, tout comme plusieurs autres études réalisées à plus grandes échelles spatiales. Ces dernières concluent que les communautés natives plus diversifiées supportent aussi un plus grand nombre d'envahisseurs (Stachowicz *et al.*, 2002, 2007).

Dans le cas présent, la relation positive entre l'abondance de *Ciona intestinalis* et la diversité spécifique obtenue est attribuable à plusieurs facteurs confondus avec la diversité spécifique, comme par exemple la variabilité des apports larvaires de l'ensemble des espèces et de *C. intestinalis*. L'absence de significativité entre les variables peut être due à un échantillonnage trop petit, à la méthode de préservation des organismes prélevés ou encore à une absence véritable de relation entre ces deux variables. Les p-value des pentes représentant les années 2009 et 2010 se rapprochent légèrement du seuil de significativité, beaucoup plus qu'en 2011. Un plus grand nombre de collecteurs avaient été déployés pendant ces deux années comparativement à l'année 2011. En augmentant l'effort d'échantillonnage, on pourrait éventuellement s'attendre à observer une relation significative entre la richesse spécifique et le nombre de *Ciona intestinalis* présentent. Une autre limite que possède cette étude est qu'en 2011, un plus grand nombre d'espèces a pu être identifiées dans chaque collecteur par rapport aux deux années précédentes grâce à la préservation des spécimens dans l'éthanol plutôt que dans l'eau de mer. Il serait approprié de reprendre cette étude en unissant un plus grand effort d'échantillonnage jumelé à la préservation dans l'éthanol. De plus, il serait très intéressant de refaire ces analyses en utilisant des collecteurs déjà colonisés par des communautés d'invertébrés en ayant préalablement caractérisé cette biodiversité et de voir si l'effet de la diversité du départ agit sur la colonisation de *Ciona intestinalis*.

## 2.5 CONCLUSION

Dans la présente étude, l'effet du type de substrat sur le recrutement des espèces benthiques sessiles et mobiles a pu être évalué à l'aide de collecteurs. Cette étude a permis de justifier l'utilisation des galets de carrière dénudés d'organismes pour remplir les collecteurs puisque les mêmes espèces ont colonisé les deux types de substrats, quoiqu'en abondances différentes. De plus, il a été démontré par ces analyses que les différences notées étaient attribuables principalement à la présence d'un petit nombre d'espèces encroûtantes très abondantes, telles les Spirorbidae, les bryozoaires et les Anomiidae, la plupart ayant colonisé de façon plus abondante le substrat artificiel, à l'exception du vers polychète *C. spirillum*. Des densités plus importantes d'herbivores ont été retrouvées sur le substrat naturel comparativement au substrat artificiel, potentiellement attirées par la présence d'algues calcaires corallinacées recouvrant en partie les galets prélevés dans la zone intertidale. L'espèce allochtone *Ciona intestinalis* a démontré une abondance significativement plus grande sur le substrat vierge nouvellement immergé, soit le substrat artificiel que sur le substrat naturel possiblement à cause de la surface accrue disponible à la colonisation. Cette préférence pour le site de colonisation ne semble par contre pas être directement corrélée de façon significative à la diversité spécifique de la communauté native colonisée par cette ascidie puisque l'effet des variables espace disponible, richesse spécifique du milieu et variabilité interannuelle seraient confondues. Ainsi, dans l'espoir de développer un outil permettant de répertorier rapidement et facilement la biodiversité des invertébrés marins de substrat rocheux, il est maintenant justifiable d'employer les galets de carrière plutôt que ceux de la zone intertidale.

## CONCLUSION GÉNÉRALE

Le premier objectif de cette étude était d'évaluer la biodiversité des invertébrés benthiques marins de substrat rocheux à l'aide du codebarre génétique afin de valider les identifications morphologiques et de construire une base de données des séquences génétiques. Les bases de données utilisées dans l'identification des organismes marins ne sont pas suffisamment complètes à ce jour pour permettre l'identification de la totalité des individus recensés dans la région du sud-ouest de la Baie de Fundy. Dans la présente étude, le codebarre génétique n'a pas permis l'identification de tous les organismes recensés à l'aide des collecteurs, mais 62 % des espèces ont pu être identifiées à l'aide du codebarre génétique et 9 % d'entre elles ont exclusivement été reconnues par le codebarre. Les étapes d'amplification ou de séquençage ont constamment échoué pour quelques espèces d'invertébrés. Il faudrait apporter une attention plus particulière à ces espèces et peut-être dessiner de nouvelles paires d'amorces pour être en mesure de les séquencer. La présente étude a permis de démontrer une grande concordance (81 %) entre les deux méthodes d'identification. Des discordances entre les identifications morphologiques et génétiques de quelques espèces a été observée, principalement parce que les individus identifiés étaient très jeunes rendant l'identification des caractères morphologiques très difficile. D'autre part, beaucoup d'espèces présentes dans GenBank ne sont représentées que par une seule séquence (organisme), ce qui rend peut-être problématique s'il y a des erreurs d'identification d'espèces. Certaines séquences présentes dans la base de données GENBANK démontrent effectivement certaines erreurs, rendant parfois impossible une identification précise de la séquence cible (Harris, 2003). À titre d'exemple, plusieurs erreurs ont été détectées par l'analyse des séquences d'ADN<sub>mt</sub> (cyt b) chez les chauves-souris ainsi que chez quelques membres de l'ordre des insectivores, regroupant les mammifères placentaires (Shen *et al.*, 2013).

Le codebarre génétique ne représente pas une méthode d'identification parfaite, elle possède aussi certaines limites comme la possibilité d'amplifier un organisme contaminant l'échantillon avec les amorces universelles ou la présence éventuelle de pseudogènes (NUMTs) (Buhay, 2009; Porter *et al.*, 2001). Parallèlement, la taxonomie morphologique ne permet pas la distinction des espèces cryptiques et selon la rigueur et l'expérience de l'identificateur, il y a davantage place à l'interprétation lors de l'identification, principalement dans le cas des individus immatures. Beaucoup d'individus appartenant à la même espèce peuvent toutefois être identifiés rapidement alors qu'avec le codebarre génétique, l'ADN de chaque individu doit être extrait, amplifié puis séquencé. La morphologie demeure souvent le moyen le plus rapide et le moins coûteux, à condition d'avoir recours à un taxonomiste d'expérience. Dans le cas présent, elle a permis l'identification d'un plus grand nombre d'espèces que le codebarre ADN classique, mais requiert l'acquisition de connaissances plus spécialisées sur la morphologie des espèces étudiées. Toutefois, les deux études comparatives citées ci-haut démontrent que le codebarre génétique semble plus sensible aux divergences intra et interspécifiques que la morphologie, spécialement dans le cas des espèces cryptiques.

En travaillant davantage à développer la liste des séquences ADN associées aux espèces de la région du sud-ouest de la Baie de Fundy, il pourrait être intéressant d'ajouter de nouvelles séquences ADN à mesure que l'on découvre de nouvelles espèces. Ainsi, une fois cette base de données complétée, la technique du codebarre environnemental (séquençage nouvelle génération) pourrait permettre d'effectuer un suivi efficace et très standardisé de la biodiversité marine de la région à l'étude. Cette technique permet l'identification simultanée de toutes les espèces contenues dans un collecteur tandis qu'à l'aide de la méthode de séquençage de Sanger, telle qu'utilisée dans le présent ouvrage, les espèces ont été identifiées un individu à la fois. Grâce aux avancées technologiques de la méthode du séquençage nouvelle génération des récentes années, il est possible aujourd'hui d'évaluer plus rapidement la biodiversité en particulier pour la détection des espèces rares (Pärtel, 2014; Zhan *et al.*, 2013). Le choix des amorces est impératif à une bonne détection (Cristescu, 2014; Wilcox *et al.*, 2013) et un couplage de divers marqueurs moléculaires

(CO1, 18S et 16S) peut être préconisé (Creer *et al.*, 2010). La présence des espèces rares joue un rôle très important dans les analyses statistiques visant à connaître la structure des communautés benthiques étudiées.

L'utilisation d'une seule méthode d'identification ne doit pas être une fin en soi, elles doivent plutôt être combinées afin d'obtenir davantage de rigueur quant aux identifications effectuées (DeSalle *et al.*, 2005). Ainsi, il serait idéal d'unir ces deux techniques d'identification afin d'optimiser le nombre d'espèces recensées. De la sorte, seules les espèces possédant des caractères morphologiques plastiques, les individus associés à de jeunes stades larvaires et ceux trop endommagés pour permettre l'identification à partir de leurs caractères morphologiques pourraient être identifiés à l'aide du codebarre génétique.

Le deuxième volet de cette étude portait sur la comparaison du recrutement des espèces endémiques et de l'espèce envahissante *Ciona intestinalis* sur des galets naturellement colonisés dans la zone intertidale et sur des galets dénudés d'organismes provenant d'une carrière. Par la présente étude, on participait à développer un outil permettant d'étudier la structure des communautés d'invertébrés marins benthiques en comparant deux types de substrats, le premier étant dit naturel (galets de l'intertidal) tandis que le second est plutôt d'origine artificiel (galets de carrière). Dans cette optique, il est important de déterminer le substrat le plus adéquat possible permettant de limiter les effets induits par celui-ci sur le recrutement des invertébrés benthiques. C'est pourquoi il est essentiel de connaître ses effets pour chacun des substrats étudiés. Les galets prélevés dans la zone intertidale sont plus représentatif des galets naturels (espèces, biofilm, algues déjà présentes). Toutefois, l'utilisation de galets de carrière est beaucoup plus simple et rapide que les galets de l'intertidal parce que les collecteurs peuvent être remplis à l'avance, sur la terre ferme. L'utilisation des galets de carrière laisse aussi une plus faible empreinte environnemental que les galets de l'intertidal puisqu'aucun prélèvement en milieu naturel n'est requis.

Les données recueillies ont permis de démontrer que le type de substrat utilisé n'influence que légèrement les communautés benthiques de substrat rocheux et qu'il est

convenable d'utiliser les galets de carrière comme substrat dans les collecteurs puisque les espèces communes, soit les espèces les plus abondantes, ont colonisé à la fois les deux types de substrats. Plusieurs espèces ont été retrouvées plus abondantes sur le substrat artificiel, possiblement dû à l'espace disponible pour la déposition larvaire. Les différences observées entre les deux types de substrat étaient principalement dues à la forte abondance de quelques espèces encroûtantes incluant les vers polychètes de la famille des Spirorbidae, les bryozoaires et les bivalves de la famille des Anomiidae et les mêmes espèces semblent avoir colonisées les deux substrats de façon générale. Il est important de noter que ces espèces encroûtantes ont été retrouvées en très grand nombre dans tous les collecteurs, et qu'elles ont dominé les communautés de substrat naturel ainsi qu'artificiel. Les analyses multivariées ont démontré que l'effet significatif du type de substrat sur le recrutement des espèces était principalement dû aux abondances d'espèces encroûtantes. L'abondance des espèces encroûtantes au temps = 0 ont été soustraites des abondances notées dans les collecteurs de substrat naturel à la fin de l'expérience avant d'effectuer les analyses multivariées. La majorité des espèces ont été recensées sur les deux substrats et les espèces exclusives à un seul type de substrat sont les moins abondantes. Ces différences de présence d'espèces peu abondantes est probablement en partie le reflet d'un échantillonnage insuffisant, et ne reflètent pas forcément de véritables différences au niveau de la tendance de certaines espèces à coloniser les différents substrats.

De manière générale, l'abondance des espèces qui ont davantage contribué aux dissimilarités observées entre les substrats était supérieure sur les galets exempts d'organismes au temps 0 de l'expérience (substrat artificiel). Cette tendance générale démontre une capacité des espèces benthiques à coloniser les surfaces vierges qui offrent beaucoup d'espace disponible pour la déposition larvaire. Sur les surfaces de substrat rocheux des zones tempérées, les systèmes sont souvent limités par l'espace disponible sur le substrat primaire et les espèces sessiles doivent entrer en compétition pour cette ressource limitée (Davis, 2009; Little et Kitching, 1996; Pérès et Devèze, 1963). Le problème lié à l'espace disponible est d'autant plus important pour les formes sessiles puisque les larves doivent d'abord trouver un espace à combler, et ensuite chacune d'elles

doit rapidement « occuper l'espace » pour éviter d'entrer en compétition avec d'autres individus et risquer d'être délogées (Pérès et Devèze, 1963).

Par contre, les larves de quelques espèces herbivores ainsi que le vers polychète *Circeis spirillum* de la famille des Serpulidae ont été davantage attirés par le substrat naturel. Un test de Mann-Whitney a permis de statuer que seulement deux des espèces herbivores étaient significativement plus abondantes sur le substrat naturel que sur le substrat artificiel, soit l'acmée *Testudinalia testudinalis* et le chiton *Tonicella rubra*. La présence d'un biofilm recouvrant les galets de la zone intertidale tout comme la présence de l'algue encroûtante du genre *Lithothamnion*, pourrait être un inducteur de la colonisation des espèces herbivores et du ver *C. spirillum* retrouvées en densités supérieures sur le substrat naturel. Les algues calcaires (*Lithothamnion*) ont déjà été reconnues comme un inducteur de l'établissement des larves d'espèces herbivores (Rodriguez *et al.*, 1993). C'est principalement le cas des chitons, des acmées et des oursins verts (Pearce et Scheibling, 1990). Toutefois, le ver *Circeis spirillum* pourrait avoir été attiré à la fois par l'algue coralline et par la présence de ses congénères déjà présents en grand nombre sur les galets au temps 0 de l'expérience. La présence d'un biofilm recouvrant les galets du substrat naturel a très bien pu influencer les larves d'herbivores et du ver *C. spirillum*, mais la composition du film microbien n'a pas été caractérisée lors de la présente étude. Il serait intéressant dans un projet subséquent, de comparer les identifications de microalgues, de bactéries ainsi que des diatomées composant cette mince couche organique à celui s'étant développé sur les galets de carrière nouvellement immergés. Ainsi, il serait possible d'évaluer si le biofilm présent ait pu avoir un pouvoir attractif ou répulsif sur la fixation larvaire et la métamorphose des espèces associées à chaque type de substrat. Les individus rampants ont démontré des patrons de colonisation inverse aux « settlers » dans le sens où les effets observés étaient davantage liés à la composition des espèces présentes dans chacun des deux substrats (matrice de présence-absence) que l'abondance des espèces présentes (données non transformées). Les analyses multivariées réalisées à partir des données non transformées d'abondance des individus rampants exclusivement illustrent l'absence d'effet du type de substrat sur le recrutement des espèces mobiles. Toutefois, un



effet significatif du type de substrat a été décelé à partir de la matrice de présence-absence. Les abondances notées pour les formes rampantes étaient beaucoup moins importantes que celles des « settlers ».

Aucune ascidie jaune *Ciona intestinalis* adulte n'a été mesuré dans les collecteurs déployés. Les peuplements de cette ascidie décrivent des patrons de colonisation à deux pics de recrutement pendant l'année, une première déposition (génération) de mai à juillet, issue des adultes de l'automne précédant, suivit d'une 2<sup>e</sup> génération de août à octobre (Carver *et al.*, 2006; Dybern, 1965; Howes *et al.*, 2007). Les individus ayant colonisés les collecteurs déployés se sont fixés pendant leur stade larvaire au substrat. Une période de croissance de six mois à l'intérieur des collecteurs est insuffisante pour leur permettre d'atteindre le stade adulte, ce qui explique pourquoi aucun adulte n'a été collectés pendant l'étude.

Le substrat artificiel a favorisé un recrutement d'individus de *Ciona intestinalis* supérieur à celui du substrat naturel. Il est probable que cette différence de recrutement soit simplement attribuable à l'espace disponible sur le substrat artificiel, exempt de toute présence vivante au temps 0 de l'expérience. Par contre, ce substrat offrait une biodiversité nulle au temps 0 de l'expérience comparativement au substrat naturel, et donc un environnement exempt de compétiteurs et/ou de prédateurs. Aucune relation significative n'a pu être observée à partir des données de 2009, 2010 et 2011. Malgré l'absence de relation significative, les données tendent toutes à illustrer une droite positive, excepté les valeurs associées au substrat artificiel de 2011, où l'on a observé une droite légèrement négative. Ces résultats suggèrent que le nombre de *C. intestinalis* augmenterait de façon proportionnelle au nombre d'espèces présentes dans la communauté. Ainsi, les analyses effectuées semblent montrer que les nouveaux arrivants seraient influencé à la fois par l'espace disponible (sur les galets de carrière versus les galets de l'intertidal) et le nombre d'espèces présentes. Ainsi, l'effet des variables espace disponible et la richesse spécifique du milieu seraient confondues. Il serait valable de reprendre cette expérience en augmentant le nombre de réplicats et de jumeler chaque collecteur à deux panneaux de PVC, l'un

suspendu dans la colonne d'eau, l'autre à proximité du collecteur. De cette façon, il serait facile de comparer le recrutement et les apports larvaires de cette espèce exotique directement sur le substrat naturel (collecteur) et dans la colonne d'eau.

Ce volet visait à comparer le recrutement des invertébrés benthiques, mais aussi à justifier l'emploi de galets de carrière dans le remplissage des collecteurs. Depuis le début du présent projet, soit depuis 2007, les galets de carrière sont utilisés comme substrat à coloniser. Ainsi, cette étude aura permis de justifier l'emploi de ces galets plutôt que les galets de la zone intertidale puisque les espèces les plus abondantes étaient présentes à la fois sur les deux types de substrats, seule l'abondance d'une minorité d'espèces était responsable des différences observées. L'emploi des collecteurs et l'utilisation de galets de carrière implique aussi certaines limitations comme le fait qu'ils ne reflètent pas parfaitement le milieu naturel puisque les galets sont exempts de toute vie au moment du déploiement. Ainsi, pour les études ultérieures, il serait important de prendre en compte les résultats obtenus et de limiter les conclusions aux processus de colonisation/recrutement s'effectuant dans les collecteurs et non dans l'ensemble du substrat naturel.

En conclusion, ce projet de maîtrise aura participé au développement des collecteurs comme un outil de suivi efficace de la biodiversité des invertébrés de substrats durs. Témoins des conséquences multiples et grandissantes du réchauffement climatique, il est essentiel de participer à développer des outils pouvant nous permettre de suivre efficacement et rapidement les diminutions de la biodiversité du benthos marin pour nous permettre d'agir le plus rapidement possible. Les collecteurs constituent un excellent outil d'évaluation des impacts sur le benthos marins suite à diverses pressions/perturbations sur le milieu. Il permettrait aussi, jumelé au codebarre environnemental, d'effectuer un suivi très rapide et sensible de la biodiversité ainsi que des populations d'espèces problématiques parce qu'elles sont rare ou que leur statut est vulnérable. Les espèces envahissantes comme les tuniciers dont les abondances ne cessent de fluctuer dans la région du sud-ouest de la Baie de Fundy et menacent l'industrie de la culture des mollusques pourraient aussi être recensés efficacement grâce aux collecteurs.



*ANNEXES*



ANNEXE I. Localisation des collecteurs déployés en 2010 utilisés pour le chapitre 1 (The Wolves) et le chapitre 2 (Beaver Harbour)

cage	latitude	longitude	site
97	44 59'222	66 41'579	Deep Gulch Cove
99	44 59'220	66 41'562	Deep Gulch Cove
101	44 59'214	66 41'544	Deep Gulch Cove
114	44 57'445	66 43'885	Horseshoe Rock West
115	44 57'447	66 43'889	Horseshoe Rock West
125	44 57'467	66 43'962	Horseshoe Rock West

cage	latitude	longitude	site	Type de substrat
116	45 03' 412	66 44' 012	Beaver-Harbour West lighthouse	Artificiel
73	45 03' 402	66 43' 596	Beaver-Harbour West lighthouse	Artificiel
124	45 03' 387	66 44' 023	Beaver-Harbour West lighthouse	Artificiel
32	45 03' 393	66 44' 038	Beaver-Harbour West lighthouse	Artificiel
137	45 03' 376	66 44' 032	Beaver-Harbour West lighthouse	Artificiel
139	45 03' 390	66 44' 022	Beaver-Harbour West lighthouse	Artificiel
108	45 03' 402	66 44' 010	Beaver-Harbour West lighthouse	Artificiel
75	45 03' 407	66 44' 011	Beaver-Harbour West lighthouse	Artificiel
179	45 03' 399	66 44' 009	Beaver-Harbour West lighthouse	Naturel
89	45 03' 405	66 44' 010	Beaver-Harbour West lighthouse	Naturel
176	45 03' 390	66 44' 011	Beaver-Harbour West lighthouse	Naturel
85	45 03' 395	66 44' 019	Beaver-Harbour West lighthouse	Naturel
173	45 03' 395	66 44' 031	Beaver-Harbour West lighthouse	Naturel
177	45 03' 382	66 44' 025	Beaver-Harbour West lighthouse	Naturel
174	45 03' 404	66 44' 019	Beaver-Harbour West lighthouse	Naturel
180	45 03' 409	66 44' 005	Beaver-Harbour West lighthouse	Naturel

# ANNEXE II. Résultats détaillés des identifications à l'aide du codebarre génétique (Crustacés)

Phylas	Identification (Morphologie)		Présence de la séquence (morpho-espèce) dans les bases de données	Gène	Identification (Codebarre génétique)			n
					GENBANK	Max ident. (%)	BOLD	Max ident. (%)
Crustacés	<i>Hyas araneus</i>		non	18S	<i>Cancer pagurus</i>	99	-	-
	<i>Pagurus arcuatus</i>		oui	COI	<i>Pagurus arcuatus</i>	98	-	-
			non	18S	<i>Pagurus longicarpus</i>	99	-	-
	<i>Lebbeus groenlandicus</i>		oui	COI	<i>Lebbeus groenlandicus</i>	98	<i>Lebbeus groenlandicus</i>	98,53
	<i>Cancer irroratus</i>		oui	COI	<i>Cancer irroratus</i>	99	<i>Cancer irroratus</i>	100
			oui	18S	<i>Cancer pagurus</i>	99	-	-
	<i>Eualus gaimardii</i>		oui	COI	<i>Eualus gaimardii</i>	97	<i>Eualus gaimardii gaimardii</i>	98,61
	<i>Pandalus montagui</i>		oui	COI	<i>Pandalus montagui</i>	99	-	-
			oui	18S	<i>Pandalus montagui</i>	99	-	-
	<i>Caprella septentrionalis</i>		oui	COI	<i>Caprella septentrionalis</i>	98	-	-
			oui	18S	-	-	-	-
	<i>Crassikorophium bonellii</i>		oui	COI	-	-	<i>Crassikorophium bonellii</i>	100
			non	18S	<i>Corophium sp.</i>	98	-	-
	<i>Eualus pusiolus</i>		oui	COI	-	-	<i>Eualus pusiolus</i>	99,79
			non	18S	<i>Eualus cranchii</i>	98	-	-
Crustacés	amphipode sp. 1 : <i>Pleusymtes glaber</i>		non	18S	-	-	-	-
	amphipode sp. 2 : <i>Pontogeneia inermis</i>		non	-	-	-	-	-
	amphipode sp. 3 : <i>Ischyrocerus anguipes</i>		non	-	-	-	-	-
	amphipode sp. 4		-	-	-	-	-	-
	<i>Hyas coarctatus</i>		non	18S	Bcp de crustacés (tous)	99	-	-
	<i>Eualus fabricii</i>		non	18S	<i>Eualus gaimardii</i>	99	-	-
	<i>Dyopetos monacantha</i>		non	-	-	-	-	-
	<i>Monocorophium ascherusicum</i>		non	18S	<i>Corophium sp.</i>	98	-	-
	<i>Dyopetos monacantha</i>		non	-	-	-	-	-
	<i>Deflexiloides</i>		non	18S	-	-	-	-
	<i>Balanus crenatus</i>		oui	COI	-	-	<i>Balanus balanus</i>	99,64
			oui	18S	<i>Balanus crenatus</i>	99	-	-

# ANNEXE II. Résultats détaillés des identifications à l'aide du codebarre génétique (Mollusques)

Phylas	Identification (Morphologie)	Présence de la séquence (morpho- espèce) dans les bases de données	Gène	Identification (Codebarre génétique)			n
				GENBANK	Max ident. (%)	BOLD	Max ident. (%)
Mollusques	<i>Dendronotus frondosus</i>	oui	18S	<i>Dendronotus frondosus</i>	96	-	1
	<i>Frigidoavania pelagica</i>	non	COI	-	-	-	1
		non	18S	<i>Eucyclotoma cymatodes</i>	98	-	1
	<i>Placopecten magellanicus</i>	oui	18S	<i>Placopecten magellanicus</i>	99	-	5
	<i>Musculus niger</i>	oui	COI	-	-	-	1
		non	18S	<i>Musculus discors</i>	99	-	2
	<i>Modiolus modiolus</i>	oui	18S	<i>Modiolus modiolus</i>	99	-	1
	<i>Buccinum undatum</i>	oui	COI	-	-	<i>Buccinum undatum</i>	2
		non	18S	<i>Volutharpa perryi</i>	99	-	1
	<i>Velutina velutina</i>	non	COI	-	-	-	1
	<i>Onchidorididae</i> sp. 1	oui	COI	-	-	-	1
	<i>Margarites helicinus</i>	oui	-	-	-	-	-
	<i>Margarites groenlandicus</i>	oui	18S	<i>Margarites groenlandicus</i>	99	-	4
	<i>Mytilus edulis/trossulus</i>	oui	COI	<i>Mytilus trossulus</i>	98	<i>Mytilus edulis</i>	1
		oui	18S	<i>Mytilus edulis/trossulus</i>	99	-	1
	<i>Hiatella arctica</i>	oui	18S	<i>Hiatella arctica</i>	99	-	3
	<i>Anomia simplex</i> (nom accepté : <i>Anomia acontes</i> )	non	18S	<i>Anomia ephippium</i>	97	-	4
	<i>Heteranomia squamula</i>	non	-	-	-	-	-
	<i>Mya arenaria</i>	oui	COI	-	-	-	1
		oui	18S	<i>Mya arenaria</i>	99	-	3
	<i>Parvicardium pinnulatum</i>	non	COI	-	-	-	1
		non	18S	<i>Parvicardium minimum</i>	97	-	2
	<i>Testudinalia testudinalis</i>	oui	-	-	-	-	-
	<i>Nucula proxima</i>	oui	COI	-	-	-	1
		oui	18S	<i>Nucula proxima</i>	99	-	1
	<i>Alvania pseudoareolata</i>	non	-	-	-	-	-
	<i>Turbonilla</i> sp.	non	-	-	-	-	-
	Ti-toutou (nudibranche)	oui	18S	<i>Flabellina verrucosa</i>	99	-	1
	Ti-tata (nudibranche)	oui	-	-	-	-	-
	<i>Boreotrophon truncatus</i>	non	18S	<i>Boreotrophon xestria</i>	98	-	1



# ANNEXE II. Résultats détaillés des identifications à l'aide du codebarre génétique (Suite)

Phylas	Identification (Morphologie)	Présence de la séquence (morpho-espèce) dans les bases de données	Gène	GENBANK	Max ident. (%)	BOLD	Max ident. (%)	n
Échinodermes	<i>Ophiura robusta</i>	non	COI	<i>Ophiuridae</i> sp.	99	<i>Ophiuridae</i>	99,36	1
		non	18S	-	-	-	-	3
	<i>Henricia singularis</i>	oui	18S	<i>Henricia sanguinolata</i>	96	-	-	1
	<i>Amphipholis squamata</i>	oui	COI	<i>Amphipholis squamata</i>	99	<i>Amphipholis squamata</i>	99,5	1
		oui	18S	<i>Amphipholis squamata</i>	99	-	-	4
	<i>Ophiopholis aculeata</i>	oui	COI	<i>Ophiopholis aculeata</i>	97	<i>Ophiopholis aculeata</i>	99,26	1
		oui	18S	<i>Ophiopholis aculeata</i>	98	-	-	3
	<i>Strongylocentrotus droebachiensis</i>	oui	COI	<i>Strongylocentrotus droebachiensis</i>	99	<i>Strongylocentrotus droebachiensis</i>	100	1
		oui	18S	Toutes les sp. d'oursins	99	-	-	2
	<i>Polyphysia crassa</i>	oui	-	-	-	-	-	-
Bryozoaires	<i>Bowerbankia gracilis</i>	oui	COI	-	-	-	-	-
	<i>Dispora hispida</i>	oui	COI	-	-	-	-	1
	<i>Electra crustulenta</i>	oui	-	-	-	-	-	-
	(Nom accepté : <i>Einhornia crustulenta</i> )							
	<i>Schizoporella biaperta</i>	non	18S	-	-	-	-	1
	(espèce synonyme : <i>Buffonellaria biaperta</i> )							
	<i>Dendroblemaria murrayana</i>	non	18S	<i>Haliclona oculata</i>	99	-	-	2
	<i>Bryo gelato</i>	-	18S	<i>Alcyonidioides mytili</i>	99/74 % seq	-	-	2
	<i>Tubulipora liliacea</i>	oui	18S	-	-	-	-	1
	<i>Didemnum albidum</i>	oui	COI	<i>Didemnum albidum</i>	99	-	-	1
Tuniciers		oui	18S	<i>Didemnum albidum</i>	100	-	-	1
	<i>Molgulidae</i> sp. 2	oui	18S	<i>Molgula citrina</i>	99	-	-	4
	<i>Halocynthia pyriformis</i>	oui	COI	<i>Boltenia ovifera</i>	99/81% seq	-	-	1
		oui	18S (adultes)	<i>Halocynthia roretzi</i>	99	-	-	4
	<i>Boltenia ovifera</i>	oui	COI	<i>Boltenia ovifera</i>	99/85% seq	-	-	1
		oui	18S	<i>Boltenia villosa</i>	99	-	-	3
	<i>Dendrodoa carnea</i>	non	18S	<i>Ascidia ceratodes</i>	98	-	-	1
	<i>Boltenia echinata</i>	non	18S	<i>Boltenia villosa</i>	99	-	-	3
	<i>Ciona intestinalis</i>	oui	COI	<i>Ciona intestinalis</i> B	98	<i>Ciona intestinalis</i>	97	9
		oui	18S	<i>Ciona intestinalis</i>	99	-	-	7

## ANNEXE II. Résultats détaillés des identifications à l'aide du codebarre génétique (Suite)

Phylas	Identification (Morphologie)	Présence de la séquence (morpho- espèce) dans les bases de données	Gène	Identification (Codebarre génétique)			n
				GENBANK	Max ident. (%)	BOLD	Max ident. (%)
Cnidares	Anémone sp. 1	oui	COI	-	-	-	1
		oui	18S	<i>Gonactinia prolifera</i>	99	-	2
	Anémone sp. 2 ( <i>Tealia felina</i> )	oui	COI	-	-	-	1
	(nom accepté : <i>Urticina felina</i> )	oui	18S	<i>Gonactinia prolifera</i>	99	-	3
Némertes	<i>Lucernaria</i> sp.2	non	18S	<i>Lucernaria janatae</i>	99	-	1
	<i>Sertularella polyzonias</i>	non	-	-	-	-	-
	<i>Carcinonemertes carcinophila</i>	oui	COI	<i>Nipponemertes pulchra</i>	99	-	1
		oui	18S	<i>Nipponemertes pulchra</i>	99	-	3
Poissons	<i>Cyclopterus lumpus</i>	oui	COI	<i>Cyclopterus lumpus</i>	99	-	1
		non	18S	<i>Macquaria australasica</i>	98	-	2
	<i>Ulvaria subbifurcata</i>	oui	COI	<i>Eumesogrammus praecisus</i>	92	-	1
		non	-	-	-	-	1
Platyhelminthes	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	oui	COI	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	100	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	2
	<i>Pleiolana atomata</i>	oui	18S	<i>Notoplana australis</i>	99	-	1
Chélicérates	<i>Nymphon</i> spp.	oui	COI	-	-	-	1
		oui	18S	<i>Callipallene</i> sp.	99	-	1
Annélides	<i>Harmothoe imbricata</i>	oui	COI	<i>Harmothoe imbricata</i>	99	<i>Harmothoe imbricata</i>	1
		oui	18S	<i>Harmothoe imbricata</i>	99	-	1
	<i>Eunoe oerstedii</i>	oui	COI	<i>Eunoe oerstedii</i>	100	-	1
		non	18S	<i>Lepidonotus squamatus</i>	99	-	1
Éponges	<i>Circeis spirillum</i>	oui	-	trop peu d'ADN	-	-	-
	<i>Spirorbis</i> sp. 1	-	-	trop peu d'ADN	-	-	-
	<i>Harmothoe extenuata</i>	non	COI	-	-	-	1
		non	18S	-	-	-	1
Éponges	<i>Lepidonotus squamatus</i>	oui	COI	<i>Lepidonotus squamatus</i>	99	-	1
	Éponge sp.1	oui	18S	<i>Mytilus edulis</i>	97	-	1
	Éponge sp.2	oui	COI	<i>Haliclona oculata</i>	99	-	1
		oui	18S	<i>Haliclona oculata</i>	99	-	3

ANNEXE III. Exemple de fiche terrain lors du nettoyage des cages

Nombres aléatoires :

Biodiversité 2011

DATE:

CAGE #:

NOM:

Traitement :

Biodiversité	Oursins

Taille des roches: Bonne, moyenne, mauvaise

INFORMATIONS GENERALES:

CAGE CONDITION:

BONNE

ENDOMMAGÉE

Charge de roches: Bonne

Faible

#

ROCKS:

SÉDIMENTS:

MINIMALE

PARTIELLE

COMPLÈTE

PEU OU PAS DE SÉDIMENTS SUR LE FOND DU COLLECTEUR  
ASSEZ DE SÉDIMENTS POUR OBSTRUER QUELQUES ESPACES ENTRE LES ROCHES MAIS PAS TOUTES  
TOUS LES ESPACES COMPRIS ENTRE LES ROCHES SONT OBSTRUÉS PAR LES SÉDIMENTS

DÉCOMPTES:

ROCHE # 1

ROCHE # 2

ROCHE # 3

ROCHE # 4

ROCHE # 5

JINGLE SHELLS (ALL SPECIES)	BRYOZOAIRES (COQUILLE COLLÉE À LA ROCHE)	BALANES SPP.	SPIRORBIS SPP.		

NOTES:

Notes pour la détermination de la taille des roches donnée par Lauren Ellis:

- **BONNE** : Il y a une bonne diversité de tailles des roches. Seulement 40-50% des roches sont considérées petite ( $\leq 5$  cm de diamètre)
- **MOYENNE** : 60-70% des roches sont petites.
- **MAUVAISE**: 80-90 % des roches sont petites (plusieurs  $< 5$  cm de diamètre).

#### ANNEXE IV. Protocole de détermination des “settlers” et des “Crawl-ins”

- The list of species from the database was separated into three categories:
  1. Species that are known to be encrusting (e.g., bryozoan) or sessile (e.g., mussel)
  2. Species with a histogram of the sizes of individuals measured from our collectors with a unimodal distribution, based on size measurements of the first 20 individuals encountered of each species per small and large bag per collector (40 measured of each species per collector). These species are neither encrusting nor highly mobile, and therefore more consideration is needed to determine if they are settlers or crawl-ins.
  3. Species that are too large to have settled in collectors over the deployment period or that are highly mobile (e.g., fishes)
    - The **first** category of species was considered settlers
    - For the **second** category, settler status was determined using both size distributions estimated from the collectors and information on the individual species in question obtained from the literature.
- Histograms were created from the raw data to look at the size classes found.
  - If the number of all measured individuals of a species was not sufficient enough to create a histogram with a reliable mode then the data was deemed insufficient to categorize the species as a settler with confidence without further information.
- Decisions were made on an individual species basis. Information on adult sizes for individual species (through a search of the scientific literature) assisted in categorizing species as either settlers or crawl-ins.

- Known adult size or maximum recorded size was noted on the histogram for individual species. If the histogram was unimodal and the majority of individuals were under the adult size, all the individuals of the species were considered to be settlers (i.e. if 1-5 individuals were larger, they were still considered settlers). If more than a few were larger (i.e. > 5 individuals), the histogram would be bimodal and the number of settlers per cage is estimated as a percentage of the total below either the adult size or before the second mode of the histogram.
- Information on larval development (i.e. benthic vs. pelagic) was also noted for some species. Species with benthic development were generally considered crawl-ins, with the exception of individuals that likely hatched in the cage (in which case there were hundreds of very small juveniles). Species with pelagic development were generally considered settlers, with the exception of individuals with adult sizes that may have floated into the cage by a strong current, of which only the percentage of the total individuals below the adult size would be included.
- Knowledge of the species natural history was also utilized. For instance, some species are described as attaching to a substrate and either remaining there or moving very little.
  - The **third** category consisted of species that were highly mobile or consisted mainly of individuals with sizes within the range of recorded adult sizes. This category was also revised using information on larval development as described in the previous category.
- The species lists including each species name and a general taxonomic group it belonged to, were segregated into these three categories. The second category was eliminated eventually by group decisions using data from the literature to identify each species as either a settler or crawl-in.



### **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- AGARDY, T. 2010. Ocean zoning: making marine management more effective. 1<sup>ère</sup> édition. Londre : Earthscan ltd. 241 p.
- AIROLDI, L, D. BALATA et M. W. BECK. 2008. The gray zone : Relationships between habitat loss and marine diversity and their applications in conservation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Volume 366, Numéros 1-2, pp. 8–15.
- AIROLDI, L., S. D. CONNELL et M. W. BECK. 2009. The loss of natural habitats and the addition of artificial substrata. Dans *Marine Hard Bottom Communities: Patterns, Dynamics, Diversity and Change*, sous la direction de Martin Wahl. pp. 269–280. *Ecological Studies*, Volume 206. Berlin: Martin Wahl
- ALHAMLAN, F. S., M. M. EDERER, C. J. BROWN, E. R. COATS et R. L. CRAWFORD. 2012. Metagenomics-based analysis of viral communities in dairy lagoon wastewater. *Journal of Microbiological Methods*, Volume 92, Numéro 2, pp. 183–188.
- ALTSCHUL, S. F., W. GISH, W. MILLER, E. W. MYERS et D. J. LIPMAN. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, Volume 215, pp. 403–410.
- AMAR, R. 2010. Impact de l’anthropisation sur la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes marins : Exemple de la manche-mer du nord. *VertigO*, la revue électronique en sciences de l’environnement, Volume 8 Hors Série. pp. 1-13.
- ANASTASIOS, E. 2013. Methods for the study of marine benthos. 4<sup>e</sup> édition. Crete, Grèce. 496 p.
- ANDERSON, J. M. 2007. The salmon connection : the development of atlantic salmon aquaculture in Canada. 1<sup>ère</sup> édition. Tantallon : Bronwen Hook. 166p.
- ANGEL, M.V. 1993. Biodiversity of the pelagic ocean. *Conservation Biology*, Volume 7, pp. 760-772.



- ARCHAMBAULT, P., P. V. R. SNELGROVE, J. A. D. FISHER, J.-M. GAGNON, D. J. GARBARY, M. HARVEY, E. L. KENCHINGTON, V. LESAGE, M. LÉVESQUE, C. LOVEJOY, D. L. MACKAS, C. W. McKINDSEY, J. R. NELSON, P. PEPIN, L. PICHE et M. POULIN. 2010. From sea to sea: canada's three oceans of biodiversity. *Plos One*, Volume 5, Numéro 8, pp. 1-26.
- BARNES, J. R. et J. J. GONOR. 1973. The larval settling response of the lined chiton *tonicella lineate*. *Marine Biology*, Volume 264, pp. 259–264.
- BAX, N., A. WILLIAMSON, M. AGUERO, E. GONZALEZ et W. GEEVES. 2003. Marine invasive alien species: a threat to global biodiversity. *Marine Policy*, Volume 27, Numéro 4, pp. 313–323.
- BENEDETTI-CECCHI, L. 2006. Understanding the consequences of changing biodiversity on rocky shores: how much have we learned from past experiments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Volume 338, Numéro 2, pp. 193–204.
- BENSASSON, D., D. ZHANG, D. L. HARTL et G. M. HEWITT. 2001. Mitochondrial pseudogenes: evolution's misplaced witnesses. *Trends in Ecology & Evolution*, Volume 16, Numéro 6, pp. 314–321.
- BLUM, J. C., A. L. CHANG, M. LILJESTROM, M. E. SCHENK, M. K. STEINBERG et G. M. RUIZ. 2007. The non-native solitary ascidian *Ciona intestinalis* (l.) depresses species richness. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Volume 342, Numéro 1, pp. 5–14.
- BRINKHURST, R. O., L. E. LINKLETTER, E. I. LORD, S. A. CONNORS et M. J. DADSWELL. 1976. A Preliminary Guide to the Littoral and Sublittoral Marine Invertebrates of Passamaquoddy Bay: Identification Center, Department of Environment Fisheries and Marine Service, Biological Station, St-Andrews, Nouveau-Brunswick, 166p.
- BUCKLIN, A., D. STEINKE et L. BLANCO-BERCIAL. 2011. Dna barcoding of marine metazoa. *Annual Review of Marine Science*, Volume 3, Numéro 1, pp. 471–508.
- BUHAY, J. E. 2009. "COI-like" sequences are becoming problematic in molecular systematic and DNA barcoding studies. *Journal of Crustacean Biology*, Volume 29, Numéro 1, pp. 96–110.

- BURKE, L., Y. KURA, K. KASSEM, C. BEVENGA, M. SPALDING et D. McALLISTER. 2001. Pilot analysis of global ecosystems DPAGE: Coastal Ecosystems. «World resources institute». Washington: Carollyne Hutter, 77 p.
- BURRIDGE, L. 2013. «A review of potential environmental risks associated with the use of pesticides to treat atlantic salmon against infestations of sea lice in southwest New-Brunswick, Canada». DFO Canadian Science Advisory Secretariat, Research document, 2013/050. IV + 25 p.
- BUZETA, M.-I. et R. SINGH. 2008. Identification of ecologically and biologically significant areas in the Bay of Fundy, Gulf of Maine. Volume 1: Areas identified for review, and assessment of the Quoddy Region. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2788 : Vii + 80 p.
- BYRNES, J. et J. J. STACHOWICZ. 2009. Short and long term consequences of increases in exotic species richness on water filtration by marine invertebrates. *Ecology Letters*, Volume 12, Numéro 8, pp. 830–41.
- CARR, C. M., S. M. HARDY, T. A. BROWN, T. A. MACDONALD et P. D. N. HEBERT. 2011. A tri-oceanic perspective: DNA Barcoding reveals geographic structure and cryptic diversity in canadian polychaetes. *Plos One*, Volume 6, Numéro 7, pp. 1-12.
- CARVER, C. E., A. CHISHOLM et A. L. MALLET. 2003. Strategies to mitigate the impact of *Ciona intestinalis* (L.) biofouling on shellfish production. *Journal of Shellfish Research*, Volume 22, Numéro 3, pp. 621–631.
- CARVER, C. E., A. L. MALLET et B. VERCAEMER. 2006. Biological synopsis of the solitary tunicate *Ciona intestinalis*. *Canadian Manuscript Report of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2746 : v + 55 p.
- CHABOT, R. et A. ROSSIGNOL. 2003. Algues et Faune du littoral du Saint-Laurent Maritime : Guide d'identification. Institut des Sciences de la Mer de Rimouski, Rimouski; Pêches et Océans Canada (Institut Maurice-Lamontagne), Mont-Joli. 113p.
- CHRISTIAN, J. R., C. G. J. GRANT, J. D. MEADE et L. D. NOBLE. 2010. Habitat Requirements and Life History Characteristics of Selected Marine Invertebrate Species occurring in the Newfoundland and Labrador Region. *Canadian Manuscript Report of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2925 : vi + 207 p.

- CLARK, G. F. et E. L. JOHNSTON. 2011. Temporal change in the diversity-invasibility relationship in the presence of a disturbance regime. *Ecology Letters*, Volume 14, Numéro 1, pp. 52–7.
- CLARKE, K. R. et R. M. WARWICK. 2001. Change in marine communities : an approach to statistical analysis and interpretation. 2<sup>e</sup> édition. PRIMER-E, Plymouth
- CLYNICK, B. G., D. BLOCKLEY et M. G. CHAPMAN. 2009. Anthropogenic changes in patterns of diversity on hard substrata : an overview. Dans *Marine Hard Bottom Communities : Patterns, Dynamics, Diversity and Change*, sous la direction de Martin Wahl. pp. 247–256. *Ecological Studies*, Volume 206. Berlin : Martin Wahl
- CORSTORPHINE, E. A. 2010. DNA barcoding of echinoderms: species diversity and patterns of molecular evolution. Mémoire de Maîtrise en Sciences, Guelph : Université de Guelph, 144 p.
- COSTA, F. O., J. R. DEWAARD, J. BOUTILLIER, S. RATNASINGHAM, R. T. DOOH, M. HAJIBABAEI et P. D.N. HEBERT. 2007. Biological identifications through DNA barcodes : the case of the Crustacea. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Volume 64, pp. 272–295.
- CRAIG, R. K. et T. HUGHES. 2012. Marine protected areas, marine spatial planning, and the resilience of marine ecosystems. Dans *Resilience and the Law*, sous presse, UTAH : Université de l’Utah, pp. 1–44.
- CREER, S., V. G. FONSECA, D. L. PORAZINSKA, R. M. GIBLIN-DAVIS, W. SUNG, D. M. POWER, S. M. PACKER, G. R. CARVALHO, M. L. BLAXTER, P. J. D. LAMBSHEAD et W. K. THOMAS. 2010. Ultrasequencing of the meiofaunal biosphere: practice, pitfalls and promises. *Molecular Ecology*, Volume 19, Supplément 1, pp. 4–20.
- CRISTESCU, M. E. 2014. From barcoding single individuals to metabarcoding biological communities: towards an integrative approach to the study of global biodiversity. *Trends in Ecology & Evolution*, Volume 29, Numéro 10, pp. 566–571.
- DAVIS, A. R. 2009. The role of mineral, living and artificial substrata in the development of subtidal assemblages. Dans *Marine Hard Bottom Communities: Patterns, Dynamics, Diversity and Change*, sous la direction de Martin Wahl. pp. 247–256. *Ecological Studies*, Volume 206. Berlin : Martin Wahl

- DE SILVA, P. H. D. H. et E. W. KNIGHT-JONES. 1962. *Spirorbis corallinae* n.sp. and some other Spirorbinae (Serpulidae) common on British shores. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, Volume 42, pp. 601–608.
- DE SILVA, P.H.D.H. 1962. Experiments on choice of substrata by *Spirorbis* larvae (Serpulidae). *Journal of Experimental Biology*, Volume 39, pp. 483–490.
- DESALLE, R., M. G. EGAN et M. SIDDALL. 2005. The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and DNA Barcoding. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, Volume 360, Numéro 1462, pp. 1905–16.
- DETTAI, A., S. J. ADAMOWICZ, L. ALLCOCK, C. P. ARANGO, D. K. A. BARNES, I. BARRATT, A. CHENUIL, A. COULOUX, C. CRUAUD, B. DAVID, F. DENIS, G. DENYS, A. DIAZ, M. ELÉAUME, J.-P. FÉRAL, A. FROGER, C. GALLUT, R. GRANT, H. J. GRIFFITHS, C. HELD, L. G. HEMERY, G. HOSIE, P. KUKLINSKI, G. LECOINTRE, K. LINSE, P. LOZOUET, C. MAH, F. MONNIOT, M. D. NORMAN, T. O'HARA, C. OZOUF-COSTAZ, C. PIEDALLU, B. PIERRAT, E. POULIN, N. PUILLANDRE, M. RIDDLE, S. SAMADI, T. SAUCÈDE, C. SCHUBART, P. J. SMITH, D. W. STEVENS, D. STEINKE, J. M. STRUGNELL, K. TARNOWSKA, V. WADLEY et N. AMEZIANE. 2011. DNA barcoding and molecular systematics of the benthic and demersal organisms of the CEAMARC survey. *Polar Science*, Volume 5, pp. 298–312.
- DIJKSTRA, J. A. et L. G. HARRIS. 2009. Maintenance of diversity altered by a shift in dominant species: implications for species coexistence. *Marine Ecology Progress Series*, Volume 387, pp. 71–80.
- DOYLE, R. 1975. Settlement of planktonic larvae: a theory of habitat selection in varying environments. *American Naturalist*, Volume 109, pp. 113–126.
- DUFFY, J. E., L. A. AMARAL-ZETTLER, D. G. FAUTIN, G. PAULAY, T. A. RYNEARSON, H. M. SOSIK et J. J. STACHOWICZ. 2013. Envisioning a Marine Biodiversity Observation Network. *BioScience*, Volume 63, Numéro 5, pp. 350–361.
- DUMONT, C. P., C. F. GAYMER et M. THIEL. 2011. Predation contributes to invasion resistance of benthic communities against the non-indigenous tunicate *Ciona intestinalis*. *Biological Invasions*, Volume 13, Numéro 9, pp. 2023–2034.

- DYBERN, B. I. 1965. The Life Cycle of *Ciona intestinalis* (L.) f. *typica* in Relation to the Environmental Temperature. *Oikos*, Volume 16, Numéro 1/2, pp. 109-131.
- ELTON, C. S. 1958. 2000. The ecology of invasions by Animals and Plants. University of Chicago Press, Chicago: Kluwer academic. 181p.
- EPELBAUM, A., C. M. PEARCE, D. J. BARKER, A. PAULSON et T. W. THERRIAULT. 2009. Susceptibility of non-indigenous ascidian species in British Columbia (Canada) to invertebrate predation. *Marine Biology*, Volume 156, pp. 1311–1320.
- FISH-BOL. 2014. «Progress Report». Dans Fish Barcode of Life. En ligne. <[http://www.fishbol.org/progress\\_reports.php?region=1&lvl=class&type=Chordata](http://www.fishbol.org/progress_reports.php?region=1&lvl=class&type=Chordata)>. Consulté le 24 mars 2014.
- FOLMER, O., M. BLACK, W. HOEH, R. LUTZ et R. VRIJENHOEK. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, Volume 3, Numéro 5, pp. 294–299.
- FOOTITT, R. G., D. T. LOWERY, H. E. L. MAW, M. J. SMIRIE et G. LUSHAI. 2009. Identification, distribution, and molecular characterization of the apple aphids *Aphis pomi* and *Aphis spiraecola* (Hemiptera: Aphididae: Aphidinae). *The Canadian Entomologist*, Volume 141, pp. 478-495.
- FRANCIS, C. M., A. V. BORISENKO, N. V. IVANOVA, J. L. EGER, B. K. LIM, A. GUILLEN-SERVENT, S. V. KRUSKOP, I. MACKIE et P. D. N. HEBERT. 2010. The role of DNA barcodes in understanding and conservation of mammal diversity in southeast Asia. *Plos One*, Volume 5, Numéro 9, pp. 1-12.
- GALLON, R. K., F. YSNEL et E. FEUNTEUN. 2013. Optimization of an “in situ” subtidal rocky-shore sampling strategy for monitoring purposes. *Marine Pollution Bulletin*, Volume 74, Numéro 1, pp. 253–63.
- GALTIER, N., B. NABHOLZ, S. GLÉMIN et G. G. D. HURST. 2009. Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Molecular Ecology*, Volume 18, pp. 4541–4550.
- GASTON, K. J. et R. A. FULLER. 2008. Commonness, population depletion and conservation biology. *Trends in Ecology & Evolution*, Volume 23, Numéro 1, pp. 14–19.

- GILL, B. A., R. A. HARRINGTON, B. C. KONDRATIEFF, K. R. ZAMUDIO, N. L. POFF et W. C. FUNK. 2014. Morphological taxonomy, DNA barcoding, and species diversity in southern rocky mountain headwater streams. *Freshwater Science*, Volume 33, Numéro 1, pp. 288-301.
- GOLLASCH, S., D. HAYDAR, D. MINCHIN, W. J. WOLFF et K. REISE. 2009. Introduced aquatic species of the north sea coasts and adjacent brackish waters. Dans *Biological Invasions in Marine Ecosystems : Ecological, Management, and Geographic Perspectives*, pp. 507-528. *Ecological Studies*, Volume 204. Berlin : Rilov et Crooks.
- GOSNER, K. L. 1971. A Guide to Identification of Marine and Estuarine Invertebrates : Cape Hatteras and The Bay of Fundy. New York, London, Sydney, Toronto : John Wiley et Sons, Ed., L. Wiley-Interscience, 693 p.
- GOULLETQUER, P., P. GROS, G. BOEUF et J. WEBER. 2012. Biodiversité en environnement marin. 1<sup>re</sup> édition. Versailles : Quae. 208 p.
- GOUVERNEMENT DU CANADA. 2011. Cadre national pour le réseau d'aires marines protégées du Canada. Pêches et Océans Canada, Ottawa. 34 pp.
- GRAY, J. S. 1997. Marine biodiversity: patterns, threats and conservation needs. *Biodiversity and Conservation*, Volume 6, pp. 153–175.
- HADFIELD, M. G. et V. J. P. 2001. Natural Chemical Cues for Settlement and Metamorphosis of Marine-Invertebrate Larvae. Dans *Marine Chemical Ecology*. pp. 431–461. (James B. McClintock et Bill J. Baker).
- HAJIBABAEI, M., S. SHOKRALLA, X. ZHOU, G. A. C. SINGER, et D. J. BAIRD. 2011. Environmental Barcoding : A Next-Generation Sequencing Approach for Biomonitoring Applications Using River Benthos. *Plos One*, Volume 6, Numéro 4, pp. 1-7.
- HARRIS, J. D. 2003. Can you bank on GenBank?. *Trends in Ecology & Evolution*, Volume 18, Numéro 7, pp. 317–319.
- HAZKANI-COVO, E., R. M. ZELLER et W. MARTIN. 2010. Molecular Poltergeists: Mitochondrial DNA Copies (numts) in Sequenced Nuclear Genomes. *Plos Genetics*, Volume 6, Numéro 2, pp. 1-11.

- HEBERT, P. D.N., A. CYWINSKA, S. L. BALL et J. R. DEWAARD. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of The Royal Society Biological sciences*, Volume 270, Numéro 1512, pp. 313–21.
- HEBERT, P. D. N., E. H. PENTON, J. M. BURNS, D. H. JANZEN et W. HALLWACHS. 2004. Ten Species in One: DNA Barcoding Reveals Cryptic Species in the Neotropical Skipper Butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Volume 101, Numéro 41, pp. 14812–14817.
- HEBERT, P. D. N., S. RATNASINGHAM et J. R. DEWAARD. 2003b. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of The Royal Society Biological sciences*, Volume 270, suppl. 96–99.
- HEIMEIER, D., S. LAVERY et M. A. SEWELL. 2010. Using DNA barcoding and phylogenetics to identify Antarctic invertebrate larvae: Lessons from a large scale study. *Marine Genomics*, Volume 3, pp. 165-77.
- HILLEBRAND, H. et B. MATTHIESSEN. 2009. Biodiversity in a complex world: Consolidation and Progress in Functional Biodiversity Research. *Ecology Letters*, Volume 12, Numéro 12, pp. 1405–1419.
- HILLIS, D. M. et M. T. DIXON. 1991. Ribosomal DNA: Molecular Evolution and Phylogenetic Inference. *The Quarterly Review of Biology*, Volume 66, Numéro 4, pp. 411–453.
- HOWES, S., C. HERBINGER, P. DARNELL, et B. VERCAEMER. 2007. Spatial and temporal patterns of recruitment of the tunicate *Ciona intestinalis* on a mussel farm in Nova Scotia, Canada. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Volume 342, Numéro 1, pp. 85–92.
- HUELSKENS, T., S. SCHREIBER et M. HOLLMANN. 2011. COI amplification success from mucus-rich marine gastropods (Gastropoda : *Naticidae*) depends on DNA extraction method and preserving agent. *Mitteilungen Der Deutschen Malakozoologischen Gesellschaft*, Volume 85, pp. 17–26.
- HUNT, H. L. et R. E. SCHEIBLING. 1997. Role of early post-settlement mortality in recruitment of benthic marine invertebrates. *Marine Ecology Progress Series*, Volume 155, pp. 269–301.

- IUCN. 2000. Guidelines for the Prevention of Biodiversity Loss Caused by Alien Invasive Species. Approved by the 51<sup>st</sup> Meeting of the UICN Council, Gland, Switzerland. 25p.
- IVANOVA, N. V., T. S. ZEMLAK, R. H. HANNER et P. D. N. HEBERT. 2007. Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Molecular Ecology Notes*, Volume 7, pp. 544–548.
- JACKSON, J. B. C., M. X. KIRBY, W. H. BERGER, K. A. BJORNDAL, L. W. BOTSFORD, B. J. BOURQUE, R. H. BRADBURY, R. COOKE, J. ERLANDSON, J. A. ESTES, T. P. HUGUES, S. KIDWELL, C. B. LANGE, H. S. LENIHAN, J. M. PANDOLFI, C. H. PETERSON, R. S. STENECK, M. J. TEGNER et R. R. WARNER. 2001. Historical Overfishing and the Recent Collapse of Coastal Ecosystems. *Science*, Volume 293, pp. 629–637.
- JENKINS, S. R., D. MARSHALL et S. FRASCHETTI. 2009. Settlement and recruitment. Dans Marine Hard Bottom Communities : Patterns, Dynamics, Diversity and Change, Sous la direction de Martin Wahl. pp. 177-190. *Ecological Studies*, Volume 206. Berlin : Martin Wahl
- KAISER, M. J., M. J. ATTRILL, S. JENNINGS, D. N. THOMAS, D. K. A. BARNES, A. S. BRIERLEY, N. V. C. POLUNIN, D. G. Raffaelli et P. J. B. WILLIAMS. 2005. Marine Ecology : Processes, Systems, and Impacts. 1<sup>ère</sup> édition. New-York: Oxford University Press Inc. 557 p.
- KAPPNER, I. et R. BIELER. 2006. Phylogeny of Venus clams (Bivalvia: Venerinae) as inferred from nuclear and mitochondrial gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Volume 40, pp. 317–31.
- KENNEDY, T. A., S. NAEEM, K. M. HOWE, J. M. H. KNOPS, D. TILMAN et P. REICH. 2002. Biodiversity as a barrier to ecological invasion. *Nature*, Volume 417, pp. 636–638.
- KEOUGH, M. J. et P. T. RAIMONDI. 1995. Responses of settling invertebrate larvae to bioorganic films: effects of different types of films. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Volume 185, pp. 235-253.
- KEOUGH, M. J. et P. T. RAIMONDI. 1996. Responses of settling invertebrate larvae to bioorganic films: effects of large-scale variation in films. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Volume 207, pp. 59–78.



- KLASSEN, G. 2012. Invasive Species: State of the Scotian Shelf Report. «Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences». Rapport numéro 3074. Maclean, Breeze, Walmsley et Corkum, 33 p.
- KNIGHT-JONES, E.W. 1951. Gregariousness and some other aspects of the settling behaviour of spirorbis. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom*, Volume 30, Numéro 2, pp. 201-222.
- KO, H., Y. WANG, T. CHIU, M. LEE, M. LEU, K. CHANG, W. CHEN et K. SHAO. 2013. Evaluating the Accuracy of Morphological Identification of Larval Fishes by Applying DNA Barcoding. *Plos One*, Volume 8, Numéro 1, pp. 1-7.
- KRESS, W. J., GARCIA-ROBLEDO, C., URIARTE, M. et ERICKSON, D. L. 2015. DNA barcodes for ecology, evolution, and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, Volume 30, Numéro 1, pp. 25-35.
- KRISHNAMURTHY, P. K. et R. A. FRANCIS. 2012. A critical review on the utility of DNA barcoding in biodiversity conservation. *Biodiversity and Conservation*, Volume 21, pp. 1901-1919.
- KRUSKAL, J. B. 1964. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. *Psychometrika*, Volume 29, Numéro 1, pp. 1-27.
- LAFORREST, B. J., A. K. WINEGARDNER, O. A. ZAHEER, N. W. JEFFERY, E. E. BOYLE et S. J. ADAMOWICZ. 2013. Insights into biodiversity sampling strategies for freshwater microinvertebrate faunas through bioblitz campaigns and DNA barcoding. *BMC Ecology*, Volume 13, Numéro 13, pp. 1-17.
- LEVINE, J. M. et C. M. D'ANTONIO. 1999. Elton revisited: A review of evidence linking diversity and invasibility. *Oikos*, Volume 87, Numéro 1, pp. 1-15.
- LITTLE, C. et J.A. KITCHING. 1996. The biology of rocky shores. New-York: Little, Martin, Southwood et Ulfstrand. 240 p.
- LIU, R., Z. YU, H. GUO, M. LIU, H. ZHANG et M. YANG. 2012. Pyrosequencing analysis of eukaryotic and bacterial communities in faucet biofilms. *Science of the Total Environment*, Volume 435-436, pp. 124-31.
- MACHIDA, R. J. et N. KNOWLTON. 2012. PCR Primers for Metazoan Nuclear 18S and 28S Ribosomal DNA Sequences. *Plos One*, Volume 7, Numéro 9, pp. 1-11.

- MALLET, D. et D. PELLETIER. 2014. Underwater video techniques for observing coastal marine biodiversity: a review of sixty years of publications (1952–2012). *Fisheries Research*, Volume 154, pp. 44–62.
- MarBOL, 2014. «MarBOL Progress Report». Dans Marine Barcode of Life Initiative. En ligne. <<http://www.marinebarcoding.org/progress/region/1/kingdom/Animalia>>. Consulté le 24 mars 2014.
- MCCLLENACHAN, L., A. B. COOPER, K. E. CARPENTER et N. K. DULVY. 2012. Extinction risk and bottlenecks in the conservation of charismatic marine species. *Conservation Letters*, Volume 5, Numéro 1, pp. 73–80.
- MCFADDEN, C. S., Y. BENAYAHU, E. PANTE, J. N. THOMA, A. P. NEVAREZ et S. C. FRANCE. 2011. Limitations of mitochondrial gene barcoding in Octocorallia. *Molecular Ecology Resources*, Volume 11, pp. 19–31.
- MEYER, C. P. 2003. Molecular systematics of cowries (Gastropoda: Cypraeidae) and diversification patterns in the tropics. *Biological Journal of the Linnean Society*, Volume 79, pp. 401–459.
- MONNIOT, F., A. DETTAI, M. ELEAUME, C. CRUAUD et N. AMEZIANE. 2011. Antarctic Ascidians (Tunicata) of the French-Australian survey CEAMARC in Terre Adélie. *Zootaxa*, Volume 2817, pp. 1–54.
- MORSE, A. N. C. et D. E. MORSE. 1984. Recruitment and metamorphosis of *Haliotis* larvae induced by molecules uniquely available at the surfaces of crustose red algae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Volume 75, pp. 191–215.
- MOULTON, M. J., H. SONG et M. F. WHITING. 2010. Assessing the effects of primer specificity on eliminating numt coamplification in DNA barcoding: a case study from Orthoptera (Arthropoda: Insecta). *Molecular Ecology Resources*, Volume 10, pp. 615–27.
- MPO. 2004. Identification des zones d'importance écologique et biologique. Secr. Can. de consult. sci. du MPO, Rapp. Sur l'état des écosystèmes 2004/006.
- MPO. 2011. Zones d'importance Écologique et Biologique – Leçons Apprises. Secr. Can. de consult. sci. du MPO, Avis Sci. 2011/049.

- MPO. 2012. Planification du réseau d'aires marines protégées dans la biorégion du plateau néo-écossais : objectifs, données et méthodes. Secr. can. de consult. sci. du MPO, Avis sci. 2012/064.
- MYERS, R. A. et C. A. OTTENSMEYER. 2005. Extinction Risk in Marine Species. Dans *Marine Conservation Biology: The Science of Maintaining the Sea's Biodiversity*, Sous la direction de Norse, E.A. et L.B. Crowder, pp. 126-174. Washington: Island Press.
- NELSON-SMITH, A., et J. M. GEE. 1966. Serpulid Tubeworms (Polychaeta Serpulidae) around Dale, Pembrokeshire. *Field Studies*, Volume 2, Numéro 3, pp. 331-357.
- NYDAM, M. et J. J. STACHOWICZ. 2007. Predator effects on fouling community development. *Marine Ecology Progress Series*, Volume 337, pp. 93-101.
- O'HARA, T. D., P. F. E. ADDISON, R. GAZZARD, T. L. COSTA et J. B. POCKLINGTON. 2010. A rapid biodiversity assessment methodology tested on intertidal rocky shores. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, Volume 20, pp. 452-463.
- OLYARNIK, S. V., M. E. S. BRACKEN, J. E. BYRNES, R. A. HUGUES, K. M. HULTGREN et J. J. STACHOWICZ. 2009. Ecological factors affecting community invasibility. Dans *Biological Invasions in Marine Ecosystems: Ecological, Management, and Geographic Perspectives*, pp. 215-238. *Ecological Studies*, Volume 204. Berlin : Rilov et Crooks.
- PAPPAL, A. 2010. Marine invasive species, *State of the Gulf of Maine Report*. Boston : Walmsley, Currier, Gould, Hertz, Huston et Tremblay, 21 p.
- PÄRTEL, M. 2014. Community ecology of absent species: Hidden and dark diversity. *Journal of Vegetation Science*, pp. 1-6.
- PAWLIK, J. R. 1992. Chemical ecology of the settlement of benthic marine invertebrates. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, Volume 30, pp. 273-335.
- PEARCE, C. M. et R. E. SCHEIBLING. 1990. Induction of Metamorphosis of Larvae of the Green Sea Urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*, by Coralline Red Algae. *Biological Bulletin*, Volume 179, pp. 304-311.
- PÉRÈS, J.-M. 1976. Précis d'océanographie biologique, 1<sup>ère</sup> édition, «Collection SUP». Presses universitaires de France, 246 p.

- PÉRÈS, J.-M. et L. DEVÈZE. 1963. Océanographie biologique et biologie marine : Tome I. La vie benthique, 1<sup>ère</sup> édition, Paris: presses universitaires de France, 514 p.
- PIRES, A. C. et L. MARINONI. 2010. DNA barcoding and traditional taxonomy unified through integrative taxonomy: a view that challenges the debate questioning both methodologies. *Biota Neotropica*, Volume 10, Numéro 2, pp. 339-346.
- PLANTY-TABACCHI, A.-M., E. TABACCHI, R. J. NAIMAN, C. DEFERRARI et H. DÉCAMPS. 1996. Invasibility of Species-Rich Communities in Riparian Zones. *Conservation Biology*, Volume 10, Numéro 2, 598–607.
- POHLE, G. W. et M. L. H. THOMAS. 1997. Marine Biodiversity Monitoring. Monitoring protocol for marine benthos: Intertidal and Subtidal macrofauna. A report by the marine biodiversity monitoring committee (Atlantic maritime ecological science cooperative, Huntsman Marine Science Centre) to the ecological monitoring and assessment network of environment canada. Huntsman Marine Science center, New-Brunswick, Canada, 29 p.
- POHLE, G. W., B. FROST et R. FINDLAY. 2001. Assessment of regional benthic impact of salmon mariculture within the Letang Inlet, Bay of Fundy. *Journal of Marine Science*, Volume 58, pp. 417–426.
- POLLOCK, L. W. 1998. A Practical Guide to the Marine Animals of Northeastern North America. New-Brunswick, New Jersey : Rutgers University Press, 367 p.
- PORTER, J. S., D. O. F. SKIBINSKI, J. LEAMON et J. HAYWARD. 2001. Technique for analysis of bryozoan mitochondrial DNA. *Molecular Ecology Notes*, Volume 1, pp. 103–105.
- POWERS, T., T. HARRIS, R. HIGGINS, P. MULLIN, L. SUTTON et K. POWERS. 2011. MOTUs, Morphology, and Biodiversity Estimation: A Case Study Using Nematodes of the Suborder Criconematina and a Conserved 18S DNA Barcode. *Journal of Nematology*, Volume 43, Numéro 1, pp. 35–48.
- QIAN, P.-Y. 1999. Larval settlement of polychaetes. *Hydrobiologia*, Volume 402, pp. 239–253.
- RADULOVICI, A. E., B. SAINTE-MARIE et F. DUFRESNE. 2009. DNA barcoding of marine crustaceans from the Estuary and Gulf of St Lawrence: a regional-scale approach. *Molecular Ecology Resources*, Volume 9, pp. 181–187.

- RADULOVICI, A. E., P. ARCHAMBAULT et F. DUFRESNE. 2010. DNA Barcodes for Marine Biodiversity: Moving Fast Forward?. *Diversity*, Volume 2, pp. 450–472.
- RILOV, G. et J. A. CROOKS. 2009. Marine Bioinvasions: Conservation Hazards and Vehicles for Ecological Understanding. Dans *Biological Invasions in Marine Ecosystems: Ecological, Management, and Geographic Perspectives*, pp. 3–11. *Ecological Studies*, Volume 204. Berlin : Rilov et Crooks.
- RIUS, M., G. M. BRANCH, C. L. GRIFFITHS et X. TURON. 2010. Larval settlement behaviour in six gregarious ascidians in relation to adult distribution. *Marine Ecology Progress Series*, Volume 418, pp. 151–163.
- RODRIGUEZ, S. R., F. P. OJEDAL, et N. C. INESTROSA. 1993. Settlement of benthic marine invertebrates. *Marine Ecology Progress Series*, Volume 97, pp. 193–207.
- RUIZ, G. M., J. T. CARLTON, E. D. GROSHOLZ et A. H. HINES. 1997. Global Invasions of Marine and Estuarine Habitats by Non-Indigenous Species: Mechanisms, Extent, and Consequences. *Integrative and Comparative Biology*, Volume 37, Numéro 6, pp. 621–632.
- SAMS, M. A. et M. J. KEOUGH. 2012. Contrasting effects of variable species recruitment on marine sessile communities. *Ecology*, Volume 93, Numéro 5, pp. 1153–63.
- SAUNDERS, G. W. (2008). A DNA barcode examination of the red algal family Dumontiaceae in Canadian waters reveals substantial cryptic species diversity. 1. The foliose *Dilsea*–*Neodilsea* complex and *Weeksia*. *Botany*, Volume 86, pp. 773–789.
- SAUNDERS, G. W. et D. C. MCDEVIT. 2013. DNA barcoding unmasks overlooked diversity improving knowledge on the composition and origins of the Churchill algal flora. *BMC Ecology*, Volume 13, Numéro 9, pp. 1–23.
- SCHANDER, C. et E. WILLASSEN. 2005. What can biological barcoding do for marine biology? *Marine Biology Research*, Volume 1, pp. 79–83.
- SCOTLAND, R., C. HUGHES, D. BAILEY et A. WORTLEY. 2003. The Big Machine and the much-maligned taxonomist DNA taxonomy and the web. *Systematics and Biodiversity*, Volume 1, Numéro 2, pp. 139–143.
- SEBENS, K. P. 1985. Rocky Subtidal Zone: The subtidal rock surfaces in New England support a diversity of encrusting species that compete for space and that recolonize patches cleared. *American Scientist*, Volume 73, Numéro 6, pp. 548–557.

- SEBENS, K. P. 1986. Spatial relationships among encrusting marine organisms in the New England subtidal zone. *Ecological Monographs*, Volume 56, Numéro 1, pp. 73–96.
- SHEARER, T. L., M. J. H. VAN OPPEN, S. L. ROMANO et G. WÖRHEIDE. 2002. Slow mitochondrial DNA sequence evolution in the Anthozoa (Cnidaria). *Molecular Ecology*, Volume 11, pp. 2475–2487.
- SHEN, Y.-Y., X. CHEN et R. W. MURPHY. 2013. Assessing DNA barcoding as a tool for species identification and data quality control. *Plos One*, Volume 8, Numéro 2, pp. 1–5.
- SMALE, D. A., G. A. KENDRICK, E. S. HARVEY, T. J. LANGLOIS, R. K. HOVEY, K. P. VAN NIEL, K. I. WADDINGTON, L. M. BELLCHAMBERS, M. B. PEMBER, R. C. BABCOCK, MATHEW A. VANDERKLIFT, D. P. THOMSON, M. V. JAKUBA, O. PIZARRO et S. B. WILLIAMS. 2012. Regional-scale benthic monitoring for ecosystem-based fisheries management (EBFM) using an autonomous underwater vehicle (AUV). *ICES Journal of Marine Science*, Volume 69, Numéro 6, pp. 1108–1118.
- SMALE, D. A., Gary A. KENDRICK, K. I. WADDINGTON, K. P. VAN NIEL, J. J. MEEUWIG et E. S. HARVEY. 2010. Benthic assemblage composition on subtidal reefs along a latitudinal gradient in Western Australia. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, Volume 86, pp. 83–92.
- SONG, H., J. E. BUHAY, M. F. WHITING et K. A. CRANDALL. 2008. Many species in one: DNA barcoding overestimates the number of species when nuclear mitochondrial pseudogenes are coamplified. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Volume 105, Numéro 36, pp. 13486–13491.
- STACHOWICZ, J. J., H. FRIED, R. W. OSMAN et R. B. WHITLATCH. 2002. Biodiversity, invasion resistance, and marine ecosystem function: reconciling pattern and process. *Ecology*, Volume 83, Numéro 9, pp. 2575–2590.
- STACHOWICZ, J. J., J. F. BRUNO et J. E. DUFFY. 2007. Understanding the Effects of Marine Biodiversity on Communities and Ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, Volume 38, pp. 739–766.
- STACHOWICZ, J. J., R. B. WHITLATCH et R. W. OSMAN. 1999. Species Diversity and Invasion Resistance in a Marine Ecosystem. *Science*, Volume 286, pp. 1577–1579.

- STEFANIAK, L., G. LAMBERT, A. GITTENBERGER, H. ZHANG et S. LIN. 2009. Genetic conspecificity of the worldwide populations of *Didemnum vexillum* Kott, 2002. *Aquatic Invasions*, Volume 4, Numéro 1, pp. 29–44.
- STENECK, R. S. 1982. A Limpet-Coralline Alga Association: Adaptations and Defenses Between a Selective Herbivore and its Prey. *Ecology*, Volume 63, Numéro 2, pp. 507–522.
- STENECK, R. S. et L. WATLING. 1982. Feeding Capabilities and Limitation of Herbivorous Molluscs: A Functional Group Approach. *Marine Biology*, Volume 68, pp. 299–319.
- STEWART-CLARK, S. E., A. SIAH, S. J. GREENWOOD, J. DAVIDSON et F. C. J. BERTHE. 2009. Development of 18S rDNA and COI gene primers for the identification of invasive tunicate species in water samples. *Aquatic Invasions*, Volume 4, Numéro 4, pp. 575–580.
- SUN, Y., E. K. KUPRIYANOVA et J. W. QIU. 2012. COI barcoding of *Hydroides*: a road from impossible to difficult. *Invertebrate Systematics*, Volume 26, pp. 539–547.
- THOMAS, M. L. H. [ed.]. 1983. Marine and coastal systems of the Quoddy Region, New Brunswick. *Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences*, Numéro 64, 306 p.
- TRIGUI, R. J. 2009. Influence des facteurs environnementaux et anthropiques sur la structure et le fonctionnement des peuplements benthiques du Golfe Normano-Breton. Thèse de doctorat en Océanologie Biologique, Paris : Museum National D'Histoire Naturelle «École Doctorale Sciences de la Nature et de l'Homme», 179 p.
- TRUJILLO, A. P. et H. V. THURMAN. 2008. Essentials of oceanography. 9<sup>e</sup> édition. New-Jersey: Pearson education, inc. 534 p.
- VALDIVIA, N. 2008. Effects of biodiversity on ecosystem stability: distinguishing between number and composition of species. Thèse de doctorat en Sciences Naturelles, Bremen : Université de Bremen, 590 p.
- VALENTINI, A., F. POMPANON et P. TABERLET. 2009. DNA barcoding for ecologists. *Trends in Ecology & Evolution*, Volume 24, Numéro 2, pp. 110–117.
- VAN HANNEN, E. J., W. MOOIJ, M. P. VAN AGTERVELD, H. J. GONS et H. J. LAANBROEK. 1999. Detritus-Dependent Development of the Microbial

Community in an Experimental System: Qualitative Analysis by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, Volume 65, Numéro 6, pp. 2478-2484.

VERNOOY, R., E. HARIBABU, M. R. MULLER, J. H. VOGEL, P. D. N. HEBERT, D. E. SCHINDEL, J. SHIMURA et G. A. C. SINGER. 2010. Barcoding Life to Conserve Biological Diversity: Beyond the Taxonomic Imperative. *Plos Biology*, Volume 8, Numéro 7, pp. 1-5.

WADA, H. 1998. Evolutionary History of Free-Swimming and Sessile Lifestyles in Urochordates as Deduced from 18S rDNA Molecular Phylogeny. *Molecular Biology and Evolution*, Volume 15, Numéro 9, pp. 1189-1194.

WALKER, P. R. et M. SIKORSKA. 1994. Endonuclease activities, chromatin structure, and DNA degradation in apoptosis. *Biochemistry and Cell Biology*, Volume 72, pp. 615-623.

WALSH, P. D. 2000. Sample Size for the Diagnosis of Conservation Units. *Conservation Biology*, Volume 14, Numéro 5, pp. 1533-1537.

WALTERS, L. J. 1992. Field Settlement Locations on Subtidal Marine Hard Substrata: Is Active Larval Exploration Involved? *Limnology and Oceanography*, Volume 37, Numéro 5, pp. 1101-1107.

WARD, R. D., R. HANNER et P. D. N. HEBERT. 2009. The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL. *Journal of Fish Biology*, Volume 74, pp. 329-356.

WARD, R. D., T. S. ZEMLAK, B. H. INNES, P. R. LAST et P. D. N. HEBERT. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, Volume 360, pp. 1847-57.

WEBB, K. E., D. K. A. BARNES, M. S. CLARK et D. A. BOWDEN. 2006. DNA barcoding: A molecular tool to identify Antarctic marine larvae. *Deep Sea Research II*, Volume 53, pp. 1053-1060.

WILCOX, T. M., K. S. MCKELVEY, M. K. YOUNG, S. F. JANE, W. H. LOWE, A. R. WHITELEY et M. K. SCHWARTZ. 2013. Robust Detection of Rare Species Using Environmental DNA: The Importance of Primer Specificity. *Plos One*, Volume 8, Numéro 3, pp. 1-9.



- ZARDUS, J. D., B. T. NEDVED, Y. HUANG, C. TRAN et M. G. HADFIELD. 2008. Microbial Biofilms Facilitate Adhesion in Biofouling Invertebrates. *The Biological Bulletin*, Volume 214, pp. 91–8.
- ZHAN, A., H. J. MACISAAC et M. E. CRISTESCU. 2010. Invasion genetics of the *Ciona intestinalis* species complex: from regional endemism to global homogeneity. *Molecular Ecology*, Volume 19, pp. 4678–94.
- ZHAN, A., M. HULÁK, F. SYLVESTER, X. HUANG, A. A. ADEBAYO, C. L. ABBOTT, S. J. ADAMOWICZ, D. D. HEATH, M. E. CRISTESCU et H. J. MACISAAC. 2013. High sensitivity of 454 pyrosequencing for detection of rare species in aquatic communities. *Methods in Ecology and Evolution*, Volume 4, Numéro 6, pp. 558–565.

